

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
 Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
 высшего профессионального образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
 ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Институт кибернетики

Кафедра Систем управления и мехатроники

Направление подготовки: Стандартизация и метрология

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Тема работы
РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЭЛЕКТРОДОВ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

УДК 544.355:577.15/.19:543.552

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
8ГМ51	Рыжинская К.А.		

Руководитель

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
с.н.с. СФТИ ТГУ	Шабалина А.В.	к.х.н		

КОНСУЛЬТАНТЫ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент каф. менеджмента	Конотопский В.Ю.	к.э.н.		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент каф. ЭБЖ	Извеков В.Н.	к.т.н.		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Зав. кафедрой	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
СУМ ИК	Губин В.Е.	к.т.н.		

Планируемые результаты обучения в магистратуре по направлению
27.04.01 «Стандартизация и метрология»

Код результата	Результат обучения (выпускник должен быть готов)	Требование ФГОС ВПО 3+, критериев и/или заинтересованных сторон
	Профессиональные компетенции	
P1	Применять современные базовые и специальные естественнонаучные, математические и инженерные знания для решения инновационных задач метрологического обеспечения, контроля качества, технического регулирования и проверки соответствия с использованием современных технологий, и учитывать в своей деятельности экономические, экологические аспекты и вопросы энергосбережения.	Требования ФГОС 3+ (ОК-1, 8, 9, 10; ПК- 17, 23, 24, 28). Критерий 5 АИОР (п.1.1, 1.3), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI
P2	Выполнять работы по метрологическому обеспечению и техническому контролю, проводить анализ состояния и динамики метрологического и нормативного обеспечения производства, производить оценку качества измерений, контроля и испытаний, проводить работы по автоматизации измерений и контроля в производстве и научных исследованиях.	Требования ФГОС 3+(ОК-13, ПК - 3, 7, 8, 9, 13, 14). Критерий 5 АИОР (п.1.3, 1.4, 1.5, 1.6), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI
P3	Выполнять работы в области стандартизации и сертификации: выполнять разработку и экспертизу новых технических регламентов и другой нормативной документации, разрабатывать процедуры оценки соответствия, поддерживать единое информационное пространство планирования и управления предприятием на всех этапах жизненного цикла изделий.	Требования ФГОС3+ (ПК-1, 2, 5, 6, 19, 21, 29). Критерий 5 АИОР (п. 1.3, 1.4, 1.5, 1.6), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI
P4	Выполнять работы в области контроля и управления качеством: исследовать причины появления некачественной продукции, разрабатывать предложения по предупреждению и устранению причин брака, осуществлять приемочный и выходной контроль продукции, а также контроль производства на основе современных технических средств.	Требования ФГОС3+ (ПК-4, 12, 14, 15, 21). Критерий 5 АИОР (п. 1.3, 1.4, 1.5, 1.6), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI

Продолжение таблицы

P5	Использовать базовые знания в области экономики, проектного менеджмента и практики ведения бизнеса, в том числе менеджмента рисков и изменений, для ведения инновационной инженерной деятельности; организовывать работы по защите объектов интеллектуальной собственности и коммерциализации прав на них, проводить технико-экономический анализ по проектам связанным с метрологическим обеспечением производства.	Требования ФГОСЗ+ (ОК-5, ПК-11, 14, 16, 17, 18, 20, 27, 30). Критерий 5 АИОР (п.2.1, 1.3, 1.5), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI
	Универсальные компетенции	
P6	Понимать необходимость и уметь самостоятельно учиться и повышать квалификацию в течение всего периода профессиональной деятельности, заниматься научно-педагогической деятельностью в области метрологии, технического регулирования и управления качеством	Требования ФГОСЗ+ (ОК-1, 3, 4, 5, ПК-32, 33, 34). Критерий 5 АИОР (п.2.6), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI
P7	Эффективно работать индивидуально, в качестве члена команды по междисциплинарной тематике, а также руководить командой, принимать исполнительские решения в условиях спектра мнений, определять порядок работ, демонстрировать ответственность за результаты работы	Требования ФГОСЗ+ (ОК-11, 12, ПК-20, 22, 32). Критерий 5 АИОР (п.2.3), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI
P8	Владеть иностранным языком на уровне, позволяющем работать в интернациональной среде, разрабатывать документацию, презентовать и защищать результаты инженерной деятельности	Требования ФГОСЗ+ (ОК-14, ПК-26). Критерий 5 АИОР (п.2.2), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI
P9	Ориентироваться в вопросах безопасности и здравоохранения, юридических и исторических аспектах, а так же различных влияниях инженерных решений на социальную и окружающую среду	Требования ФГОС ВПО 3+ (ОК-7, ПК-10, 14, 20,). Критерий 5 АИОР (п.2.5), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI
P10	Следовать кодексу профессиональной этики, ответственности и нормам инженерной деятельности, проявлять гражданскую позицию, направленную на его совершенствование.	Требования ФГОС ВПО 3+(ОК-6). Критерий 5 АИОР (п.1.6, 2.4), согласованный с требованиями международных стандартов EURACE и FEANI

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Институт кибернетики

Кафедра Систем управления и мехатроники

Направление подготовки: Стандартизация и метрология

УТВЕРЖДАЮ:

Зав. кафедрой

(Подпись)

(Дата)

Губин В.Е.
(Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ

на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

Магистерской диссертации

Студенту:

Группа	ФИО
8ГМ51	Рыжинской Ксении Александровне

Тема работы:

Разработка методики определения органических и биологически активных соединений в водных растворах с использованием модифицированных электродов вольтамперометрическим методом	
Утверждена приказом директора	№1653/с от 13.03.2017

Срок сдачи студентом выполненной работы:

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

Исходные данные к работе	<i>Объект исследований:</i> планарные графитовые электроды, модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, приготовленной методом лазерной абляции. <i>Исходные данные:</i> <ul style="list-style-type: none">- ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения;- ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике;- РМГ 61-2010 ГСИ. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки;- ГОСТ Р 8.563-2009 ГСИ Методики (методы) измерений;- МИ 2083-90 Измерения косвенные. Определение результатов измерений и оценивание их погрешностей.
---------------------------------	--

Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов	<p>1. Аналитический обзор источников литературы с целью выявления существующих вольтамперометрических методик и их показателей качества, характеристик планарных графитовых электродов и общих сведений об анализе: аскорбиновой кислоте, никотиновой кислоте и глюкозе.</p> <p>2. Постановка цели и задач научного исследования.</p> <p>3. Исследование морфологии поверхности планарных графитовых электродов, модифицированных наночастицами меди.</p> <p>4. Изучение возможности применения планарных графитовых электродов, модифицированных наночастицами меди, для количественного определения органических соединений в водных растворах.</p> <p>5. Применение методов статистической обработки экспериментальных данных для оценки показателей качества методик количественного вольтамперометрического анализа органических соединений.</p> <p>6. Обсуждение результатов исследований.</p>
Перечень графического материала	
Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы	
Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Конотопский В.Ю.
Социальная ответственность	Извеков В. Н.
Названия разделов, которые должны быть написаны на русском и иностранном языках:	
1 Вольтамперометрия	

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	
---	--

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
с.н.с. СФТИ ТГУ	Шабалина А.В.	к.х.н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
8ГМ51	Рыжинская К.А.		

**ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА
«ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСООБЪЕДИНЕНИЕ И
РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»**

Студенту:

Группа	ФИО
8ГМ51	Рыжинской Ксения Александровна

Институт	Кибернетики	Кафедра	СУМ
Уровень образования	Магистратура	Направление/специальность	Стандартизация и метрология

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:	
1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих	
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов	
3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования	НДС – 18 %, зачисления на заработную плату – 30 %
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Оценка коммерческого и инновационного потенциала НТИ	
2. Разработка устава научно-технического проекта	
3. Планирование процесса управления НТИ: структура и графики проведения, бюджет, риски и организация закупок	
4. Определение ресурсной, финансовой, экономической эффективности	
Перечень графического материала:	

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
--	--

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент каф. менеджмента	Конотопский В.Ю.	к.э.н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
8ГМ51	Рыжинская К.А.		

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

Группа	ФИО
8ГМ51	Рыжинской Ксении Александровне

Институт	Кибернетики	Кафедра	СУМ
Уровень образования	Магистратура	Направление/специальность	Стандартизация и метрология

Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:

1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, рабочая зона) и области его применения	<p>Объект исследования – планарные графитовые электроды, модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, приготовленной методом лазерной абляции. Электроды использовались для разработки методики количественного определения органических и биологически активных веществ в водных растворах. В качестве органических и биологически активных соединений исследовались аскорбиновая кислота, никотиновая кислота, глюкоза;</p> <p>Приборы: измерительный прибор (потенциостат-гальваностат), ПК;</p> <p>Область применения: аналитические и фармацевтические лаборатории;</p> <p>Научная работа выполнялась в лаборатории новых материалов и перспективных технологий, Сибирский физико-технический институт имени В.Д. Кузнецова ТГУ.</p>
2. Знакомство и отбор законодательных и нормативных документов по теме	<p>1. СанПиН 2.2.4/2.1.8.10-32-2002. Шум на рабочих местах, в помещениях жилых, общественных зданий и на территории жилой застройки.</p> <p>2. СанПиН 2.2.4.548-96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений.</p> <p>3. ГОСТ Р 12.1.019-2009. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.</p> <p>4. Федеральный закон "технический регламент о требованиях пожарной безопасности"</p>
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Анализ выявленных вредных факторов проектируемой производственной среды в следующей последовательности: – физико-химическая природа вредности, её связь	<p>- шумы;</p> <p>- освещение;</p> <p>- микроклимат;</p> <p>- токсичные и раздражающие вещества в</p>

<ul style="list-style-type: none"> с разрабатываемой темой; – действие фактора на организм человека; – приведение допустимых норм; – предлагаемые средства защиты 	воздухе рабочей зоны;
2. Анализ выявленных опасных факторов проектируемой производственной среды в следующей последовательности:	<ul style="list-style-type: none"> - электробезопасность (источники, средства защиты); - пожаро- и взрывобезопасность (источники, профилактические мероприятия, средства защиты).
3. Охрана окружающей среды: <ul style="list-style-type: none"> – защита селитебной зоны – анализ воздействия объекта на атмосферу (выбросы); – анализ воздействия объекта на гидросферу (сбросы); – анализ воздействия объекта на литосферу (отходы); – разработать решения по обеспечению экологической безопасности. 	<ul style="list-style-type: none"> - анализ воздействия объекта на атмосферу (выбросы); - анализ воздействия объекта на гидросферу (сбросы); - разработка решений по обеспечению экологической безопасности
4. Защита в чрезвычайных ситуациях: <ul style="list-style-type: none"> – перечень возможных ЧС на объекте; – выбор наиболее типичной ЧС; – разработка превентивных мер по предупреждению ЧС; – разработка действий в результате возникшей ЧС и мер по ликвидации её последствий 	Защита в чрезвычайных ситуациях: <ul style="list-style-type: none"> - перечень возможных ЧС на объекте; - выбор наиболее типичной ЧС (пожар); - разработка превентивных мер по предупреждению ЧС.
5. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности: <ul style="list-style-type: none"> – специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; – организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны 	<ul style="list-style-type: none"> - специальные (характерные для проектируемой рабочей зоны) правовые нормы трудового законодательства; - организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
--	--

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент каф. ЭБЖ	Извеков В.Н.	к.т.н		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
8ГМ51	Рыжинская К.А.		

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ТОМСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Институт кибернетики

Кафедра Систем управления и мехатроники

Направление подготовки: Стандартизация и метрология

Уровень образования Магистратура

Период выполнения (осенний / весенний семестр 2016/2017 учебного года)

Форма представления работы:

Магистерская диссертация

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН
выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы:	
--	--

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
01.05.2017	Основная часть	60
05.05.2017	Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	15
15.05.2017	Социальная ответственность	10
30.05.2017	Обязательное приложение на иностранном языке	15
	Итого	100

Составил преподаватель

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
с.н.с. СФТИ ТГУ	Шабалина А.В.	к.х.н.		

Реферат

Выпускная квалификационная работа представлена на 127 страницах, включает 30 иллюстраций, 43 таблицы, 52 источника литературы.

Ключевые слова: вольтамперометрия, планарные электроды, наночастицы меди, показатели качества, количественный анализ.

Объектом исследования являются планарные графитовые электроды, модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, приготовленной методом импульсной лазерной абляции.

Целью работы является оценка показателей качества методик определения глюкозы, аскорбиновой и никотиновой кислот в водных растворах на планарных графитовых электродах, модифицированных наночастицами меди, полученных методом лазерной абляции.

В процессе работы проводилось приготовление модифицированных электродов, получение и статистическая обработка массива данных количественного определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы с использованием модифицированных электродов в водных растворах. В результате исследования были оценены показатели качества разработанных методик количественного определения выше перечисленных веществ.

Полученные результаты могут применяться для создания стандартизованных методик количественного определения глюкозы, аскорбиновой и никотиновой кислот вольтамперометрическим методом в различных областях (измерительные лаборатории, аналитические лаборатории при производстве, медицинские лаборатории и т.п.).

В дальнейшем планируется изучение мешающего влияния компонентов различных проб с целью расширения области применимости методики до анализа таких объектов как кровь человека, моча, другие биологические материалы, фармацевтические препараты, сырье и полупродукты пищевых и фармацевтических производств и проч. Также планируется создание сенсорной системы, в том числе – портативной, на основе модифицированного планарного электрода для определения глюкозы, аскорбиновой и никотиновой кислот в различных объектах вольтамперометрическим методом.

Использование вольтамперометрического метода количественного определения биологически активных соединений на графитовых электродах, модифицированных наночастицами меди, приведет к увеличению экспрессности и снижению расходов на проведение единичного анализа, что позволит удешевить диагностику заболеваний у пациентов и лечебный процесс в целом.

Список условных обозначений и сокращений

Сокращения:

ВА – вольтамперометрия / вольтамперометрический анализ;

ЦВА – циклическая вольтамперометрия;

ХМЭ – химически модифицированный электрод;

ГХ – градуировочная характеристика;

CSPE – планарный графитовый электрод;

Cu/CSPE – планарный графитовый электрод, модифицированный наночастицами меди из спиртовой дисперсии, полученной методом импульсной лазерной абляции;

АК – аскорбиновая кислота;

НК – никотиновая кислота.

Обозначения:

E – потенциал, мВ;

I – сила тока, мкА;

Q – площадь под пиком электропревращения аналита, мкКл;

C – концентрация анализируемого вещества, мкМ.

Содержание

Введение	14
1 Вольтамперометрия	16
1.1 Сущность метода	16
1.2 Аналитический сигнал	18
1.2.1 Способы определения высоты пика	20
1.2.2 Способы определения площади под пиком	21
1.2.3 Способы улучшения сигнала	22
1.3 Количественный анализ в вольтамперометрии	22
1.3.1 Метод градуировочного графика	22
1.3.2 Метод добавок	25
1.3.3 Метод «введено – найдено»	26
1.4 Показатели качества методики количественного электрохимического анализа	26
1.4.1 Термины и определения	26
1.4.2 Диапазон валидационных параметров	29
1.5 Инструментальное обеспечение метода	29
1.5.1 Электроды	29
1.5.2 Модификаторы электродов	30
1.5.3 Анализируемые вещества	33
2 Экспериментальная часть	39
2.1 Реализация метода	39
2.2 Оборудование	39
2.3 Реактивы и рабочие растворы	42
2.4 Условия окружающей среды	43
2.5 Модифицирование электродов	43
3 Результаты экспериментальных исследований	44
3.1 Характеристика поверхности модифицированных электродов	44
3.2 Результаты вольтамперометрического определения аскорбиновой	45

кислоты на Cu/CSPE	
3.3 Результаты вольтамперометрического определения никотиновой кислоты на Cu/CSPE	53
3.4 Результаты вольтамперометрического определения глюкозы на Cu/CSPE	57
3.5 Оценка возможности совместного определения АК, НК и глюкозы с использованием модифицированных электродов	62
3.6. Выводы по разделу	64
4. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	65
5. Социальная ответственность	82
Заключение	99
Список научных публикаций	100
Список используемой литературы	101
Приложение А	107

Введение

Научно исследовательская работа (НИР) связана с разработкой методик количественного определения органических и биологически значимых соединений (аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы) в водных растворах вольтамперометрическим методом.

Вольтамперометрия является широко распространенным и высокочувствительным методом определения химических соединений. Успехи в этой области электроанализа связаны с появлением нового поколения электродов – химически модифицированных [1]. Интерес к модифицированным электродам связан с потребностями ряда областей науки и практики в химических сенсорах – портативных устройствах для определения вещества без предварительной пробоподготовки анализируемых объектов. Улучшение свойств, увеличение селективности и специфичности электродов достигается за счет поверхностного или объемного введения веществ-модификаторов в состав индикаторного электрода. Благодаря модифицированию достигается повышение чувствительности и снижение пределов обнаружения органических соединений, среди которых особое значение имеют биологически активные [2].

Одними из важнейших биологически активных веществ являются аскорбиновая кислота, никотиновая кислота и глюкоза. Они присутствуют во внутриклеточной жидкости центральной нервной системы и в сыворотке крови. Отклонение от нормального содержания данных веществ в организме ведет к серьезным заболеваниям, поэтому определение точного их содержания очень важно. Как упоминалось выше, для повышения чувствительности, селективности и снижения предела обнаружения этих веществ и обеспечения высоких показателей качества анализа предлагается использовать модифицированные электроды.

В данной работе для количественного определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы предлагается использовать планарные графитовые электроды, полученные методом трафаретной печати,

модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, полученной методом лазерной абляции.

Целью данной работы является оценка показателей качества методик определения глюкозы, аскорбиновой и никотиновой кислот в водных растворах на планарных графитовых электродах, модифицированных наночастицами меди, полученных методом лазерной абляции.

К задачам относилось:

1. Модифицирование планарных графитовых электродов наночастицами меди.
2. Установление аналитического сигнала и получение градуировочных функций для электропревращений аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы на модифицированных электродах.
3. Получение результатов многократных измерений концентрации изучаемых аналитов с использованием модифицированных электродов.
4. Валидация методик количественного определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы в водных растворах с использованием модифицированных электродов.
5. Оценка возможности определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы при совместном присутствии с использованием модифицированных электродов в водных растворах.

Объектом исследования являлись планарные графитовые электроды, модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, приготовленной методом лазерной абляции.

Личный вклад автора заключается в обосновании необходимости разработки методики количественного определения биологически активных веществ, планировании и проведении эксперимента, в анализе, обработке и интерпретации экспериментальных результатов.

1 Вольтамперометрия

Электрохимические методы исследования и анализа эффективно применяются в различных областях науки и техники. Им свойственны высокая чувствительность, экспрессность, универсальность, селективность, кроме того, они часто позволяют определить несколько компонентов смеси одновременно. Электрохимические методы позволяют проводить измерения концентрации различных веществ с достаточно высокой точностью (от 0,05 до 10 %) и воспроизводимостью в широком диапазоне. С их помощью можно определять органические и неорганические вещества, как в водных, так и неводных растворах. В настоящее время электрохимические методы стали стандартными методами контроля содержания различных веществ (биологически значимых, токсичных и т.п.) в объектах окружающей среды, лекарственных препаратах, продуктах питания и биологических жидкостях [3]. Высокая точность, избирательность и сравнительная простота вольтамперометрических методов делают их одними из наиболее удобных методов анализа, а иногда и единственно возможными.

1.1 Сущность метода

Под вольтамперометрией принято понимать метод исследования и анализа, основанный на изучении зависимости силы тока поляризации в электролитической ячейке от потенциала, погруженного в анализируемый раствор рабочего электрода (РЭ), на котором реагирует исследуемое электрохимически активное (электроактивное) вещество. На поверхности индикаторного электрода можно проводить операции разделения, концентрирования и определения вещества.

Помимо индикаторного электрода в электрохимическую ячейку вносят электрод сравнения (ЭС), который должен сохранять свой потенциал постоянным и не реагировать на анализируемое вещество, и вспомогательный

электрод (ВЭ) со значительно большей поверхностью, чтобы при прохождении тока его потенциал практически не изменялся (неполяризующийся электрод). Возможно использование 2-х электродной системы без вспомогательного электрода. Электроды погружают в индифферентный электролит, в качестве которого чаще всего используются водные растворы солей, кислот или оснований, в которых ток переносится ионами. Для проведения измерений вольтамперометрическим методом используют установки, в которых основными элементами являются электрохимическая ячейка, источник поляризующего напряжения (ИПН), потенциостат (П) и измеритель тока (ИТ) [4]. На рисунке 1 приведена схема установки для вольтамперометрического анализа с 3-х электродной системой.

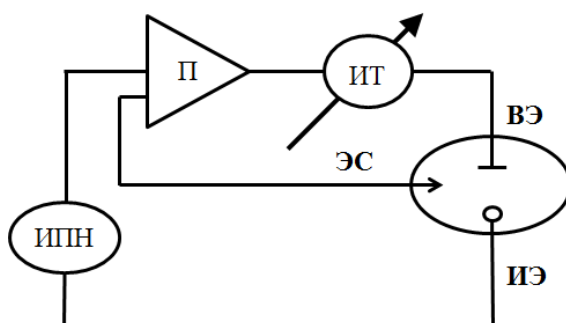


Рисунок 1 – Схема установки с трёхэлектродной ячейкой

Напряжение, подаваемое на электроды, представляет собой сумму потенциалов:

$$E = E_{иэ} - E_{эс} + IR, \quad (1)$$

где $E_{иэ}$ – потенциал индикаторного электрода, В;

$E_{эс}$ – потенциал электрода сравнения, В;

IR – омическое падение напряжения в растворе при протекании тока, В.

Основным методом изучения электрохимических процессов в данной работе служил метод циклической вольтамперометрии. Циклическая вольтамперометрия – очень удобный способ обнаружения электроактивных веществ, их числа в исследуемом растворе, а также пригодный для установления обратимости электродного процесса. Этот метод применим для

изучения кинетики электродных процессов, определения устойчивости присутствующих веществ и количественного анализа.

Успех вольтамперометрического анализа во многом зависит от правильного выбора индикаторного электрода. Поэтому материалу электрода, способам регенерации и модифицирования его поверхности, определяющим рабочую область потенциалов, величину сигнала-отклика и возможность достижения заданных метрологических характеристик, уделяется большое внимание. В качестве индикаторных электродов используют стационарные и вращающиеся электроды из металла (серебро, золото, платина), капающие электроды (из ртути, амальгам, галлия), а также электроды из углеродных материалов (графит, стеклоуглерод, углеродная паста и проч.). Долгое время были широко распространены электроды из благородных металлов, в частности из платины, но в настоящее время их постепенно вытеснили углеродные электроды, у которых рабочий диапазон потенциалов значительно шире и которые не взаимодействуют с осаждаемым веществом [5]. Современным вариантом электрохимических датчиков служат планарные электроды, изготовленные из углеродной пасты методом трафаретной печати (carbon screen-printed electrodes, CSPE).

1.2 Аналитический сигнал

Аналитическая методика – это способ проведения анализа, то есть детальное изложение всех операций, необходимых для выполнения испытания. Она включает описание подготовки испытуемых образцов, стандартов и реактивов; описание используемого оборудования с указанием параметров; условия получения калибровочных кривых; использование расчетных формул и т. д.

Метод вольтамперометрического анализа основан на расшифровке вольтамперограмм, полученных в электрохимической ячейке с поляризующимся индикаторным электродом. Вольтамперограмма представляет

собой зависимость тока, протекающего через ячейку от приложенного к электродам напряжения ($E-I$). Пример получаемой вольтамперограммы при линейном увеличении потенциала представлен на рисунке 2.

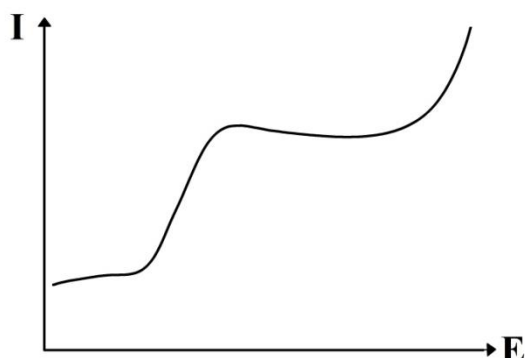


Рисунок 2 – Пример получаемой вольтамперной зависимости при линейной развертке потенциала

Аналитический сигнал (S_i) возникает в результате электрохимической реакции. Измеряемыми параметрами, интенсивность которых функционально связана с концентрацией (c_i) определяемого вещества в вольтамперометрическом методе анализа являются сила тока (I , А) и количество электричества (Q , Кл).

К аналитическому сигналу предъявляется ряд требований:

- функциональная зависимость $S_i=f(c_i)$ не должна иметь экстремума, т.к. одной величине концентрации должен соответствовать один аналитический сигнал S_i и наоборот;

- *чувствительность*: необходимо, чтобы отношение изменения сигнала к изменению концентрации $\Delta S_i/\Delta c_i$ было максимальным;

- *селективность*: при наличии в исследуемом растворе других компонентов помимо анализируемого компонента (i), необходимо, чтобы при $c_i = \text{const}$ величина сигнала S_i не изменялась при изменении концентрации других компонентов;

- *помехозащищенность анализа*: необходимо, чтобы при воздействии на анализируемую электрохимическую ячейку внешних факторов (Φ), например давления, температуры, электрического и магнитного поля, изменение величины аналитического сигнала $\Delta S_i/\Phi$ было минимальным.

На стационарных электродах аналитическим сигналом является анодный или катодный ток электро-превращения определяемого вещества, регистрируемый на вольтамперограмме в виде пика (или нескольких пиков для различных веществ). Аналитический сигнал должен появляться только в присутствии анализируемого вещества (за исключением электрокатализа). Для установления принадлежности пика к аналиту всегда проводится получение вольтамперограммы фоновое электролита в его отсутствие.

Пик на вольтамперограмме характеризуется тремя параметрами: положение (значение потенциала, В), высота пика (максимальное значение силы тока, А) и площадь под пиком (количество электричества, Кл). Потенциал появления пика характеризует природу вещества (служит для идентификации этого вещества по справочным данным, так как каждое вещество характеризуется своим окислительно-восстановительным потенциалом). Высота пика – количество электронов, прошедших через границу раздела электрод/электролит за время получения сигнала, а площадь под пиком – количество электричества, то есть это интегральная величина, характеризующая количество электронов, прошедшее через ограниченную поверхность (граница раздела электрод/электролит) за единицу времени.

Для применения в количественном анализе площадь под пиком и высота пика должны пропорционально зависеть от концентрации определяемого вещества. В этом случае можно будет по определяемой экспериментально величине рассчитать содержание аналита в пробе.

1.2.1 Способы определения высоты пика

Измерение высоты пика можно проводить любым из способов, представленных на рисунке 3 [6]. Для исключения грубых погрешностей измерений в каждой серии опытов способ измерения должен быть одним и тем же.

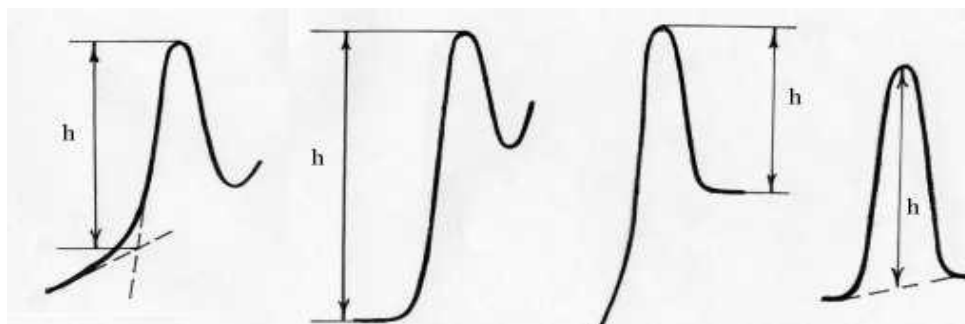


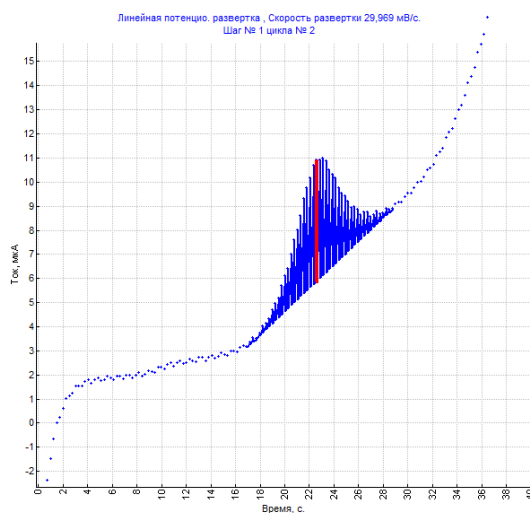
Рисунок 3 – Измерение высоты пика тока на вольтамперограмме

Точность способов измерения высоты пика, показанных на рисунке 3, очень близка, и выбор конкретного способа зависит от формы вольтамперной кривой.

Поскольку пики различных веществ имеют широкое многообразные форм (чаще всего они несимметричны относительно средней линии, проходящей через наивысшую точку пика), то пропорциональная зависимость строго выполняется в основном между количеством вещества в пробе в электрохимической ячейке и площадью пика. То есть, более точные результаты в случае широких и неправильной формы пиков дает измерение площади под пиком.

1.2.2 Способы определения площади под пиком

Площадь под пиком вычисляется с использованием программного обеспечения, осуществляющего управление потенциостатом, как показано на рисунке 4, либо с использованием любого другого подходящего программного пакета (Excel, OriginPro, Advanced Grapher).



Интегрирование и расчет площади, дифференцирование

Интегрирование и расчет площади пика

Выбрать точки с по
17,486 с. 28,8 с.

☒ Режим интегрирования - вся площадь под кривой
☐ Режим расчета площади пика - с вычитанием трапеции

Площадь мкКл
Высота пика нА

Рисунок 4 – Расчет площади под пиком с использованием программного обеспечения осуществляющего управление потенциостата

В современном ПО применяется быстрая обработка сигнала от датчика, расчет статистических характеристик, как исходного сигнала, так и результатов всего анализа. Поэтому, правильное измерение площади под пиком или высоты пика влияет на правильность и точность всего анализа в целом.

1.2.3 Способы улучшения сигнала

Улучшение аналитического сигнала и устранение возможных помех в вольтамперометрическом анализе может быть достигнуто за счет правильного подбора фоновое электролита, варьирования условий съемки, а также с помощью модифицирования поверхности индикаторного электрода.

1.3 Количественный анализ в вольтамперометрии

1.3.1 Метод градуировочного графика

Прежде чем приступить к снятию вольтамперограмм раствора с неизвестной концентрацией определяемого вещества, необходимо получить градуировочную характеристику (градуировку, ГХ). Для построения градуировки снимают вольтамперограммы ряда растворов (градуировочных

смесей) из 5–8 стандартных растворов с разной и точно известной концентрацией определяемого вещества. Для каждой точки необходимо использовать не менее 3-х параллельных растворов. По полученным параметрам экспериментальных значений строят зависимость высоты пика тока или площади под пиком от концентрации определяемого вещества. Затем снимают вольтамперограмму исследуемого образца с неизвестной концентрацией аналита в тех же условиях, и, определив высоту/площадь пика, находят алгебраически или графически концентрацию анализируемого вещества.

Для оптимизации затрат при проведении измерений и достижения требуемой точности градуировочной характеристики необходимо провести планирование измерений на этапе разработки методики [7]. Планирование измерений заключается в выборе числа параллельных измерений в точке n , числа точек N , а также установлении требований к точности градуировочных смесей, исходя из требуемой точности построения градуировочной характеристики.

Число измерений n в точке рационально выбирать из условия незначительного роста суммарной погрешности по сравнению с систематической составляющей по формуле

$$n \geq \frac{\max x_i \frac{7S^2(y)}{b^2 \cdot \theta(x)}}{\max x_i \frac{2u_A^2(y)}{b^2 \cdot u_B^2(x)}} \quad (2)$$

где x – концентрация анализируемого вещества, моль/л;

y – площадь под пиком, Кл;

$S(y)$ – среднее квадратическое отклонение (СКО) однократного измерения выходной величины;

$\theta(x)$ – абсолютная погрешность градуировочных смесей;

$u_A(y)$ – стандартная неопределенность значения выходной величины, оцененная по типу А;

$u_B(x)$ – стандартная неопределенность градуировочной смеси, оцененная по типу В;

b – параметр градуировочной характеристики.

Если градуировочные смеси готовились независимо друг от друга, то требуемая точность построения ГХ может быть достигнута за счет увеличения числа градуировочных смесей и уменьшения их погрешностей в соответствии с формулой:

$$\frac{\max_{x_i} b^2 \cdot \theta^2(x_i)}{3N} = \frac{\max_{x_i} b^2 \cdot u_B^2(x_i)}{N} \leq u_{\Sigma_{\text{дон}}}^2, \quad (3)$$

где $u_{\Sigma_{\text{дон}}}$ – допустимая суммарная стандартная неопределенность построения ГХ (СКО допустимой погрешности).

Если градуировочные смеси готовились разбавлением основной смеси или с использованием одних и тех же стандартных образцов, то при построении линейных ГХ рекомендуется использовать две градуировочные смеси. При этом должны быть обеспечены следующие погрешности градуировочных смесей, исходя из требований к точности построения ГХ:

$$\frac{\max_{x_i} b^2 \cdot \theta^2(x_i)}{3} = \max_{x_i} b^2 \cdot u_B^2(x_i) \leq u_{\Sigma_{\text{доп}}}^2 \quad (4)$$

При проведении исследования нельзя считать достоверными результаты, полученные за пределами градуировочной кривой, т.к. градуировочные функции некоторых органических веществ часто бывают нелинейными, и экстраполяция ведет к большим погрешностям анализа. В том случае если в результате измерений в пробе содержание определяемого компонента находится вне границ градуировочного графика, следует заново построить ГХ таким образом, чтобы предполагаемый результат анализа находился между крайними значениями концентраций градуировочных смесей.

Градуировочные графики, построенные с реактивами разных партий, как правило, не совпадают. Поэтому при смене реактивов график необходимо построить заново. Кроме того, график, построенный при работе на одном приборе, не может использоваться для расчетов результатов, полученных на другом приборе.

1.3.2 Метод добавок

Метод добавок заключается во внесении известных, заранее подготовленных добавок в анализируемую пробу. Согласно РМГ 61, рабочие пробы вещества и рабочие пробы вещества с известной величиной добавки являются образцами для оценивания качества методики анализа с применением метода добавок [8]. Специально приготовленные пробы (добавки) с известной концентрацией должны быть однородными, соответствовать составу проб вещества. Погрешность их приготовления не должна вносить дополнительную статистически значимую погрешность в значения показателя правильности методики анализа. Содержание определяемого компонента в пробе не должно превышать верхней границы диапазона, в котором ранее была получена градуировочная характеристика, и было принято постоянство показателя воспроизводимости. Таким образом, изначально необходимо снять вольтамперограмму анализируемого раствора в фоновом электролите, далее в анализируемый раствор внести специально приготовленный раствор определяемого вещества с точно известной концентрацией, с таким расчетом, чтобы пик увеличился приблизительно вдвое. Проведя съемку вольтамерограммы в тех же условиях, по формуле 5 вычисляется концентрация определяемого вещества:

$$C_x = \frac{I_n \cdot C_d \cdot V_d}{(I_d - I_n) \cdot V_{\text{общ}}}, \quad (5)$$

где C_x – концентрация определяемого элемента в растворе электрохимической ячейки, моль/л;

C_d – концентрация специально приготовленной пробы (добавки), моль/л;

I_n – высота пика анализируемого компонента на вольтамперограмме пробы, мкА;

I_d – высота пика анализируемого компонента на вольтамперограмме пробы с добавкой, мкА;

V_d – объем добавки анализируемого компонента в ячейку, мл;

$V_{\text{общ}}$ – суммарный объем анализируемого раствора (включая объем фоновый электролита) и добавки, мл.

Преимуществом метода добавок является то, что он позволяет наиболее полно учесть влияние примесей при анализе реального объекта.

1.3.3 Метод «введено – найдено»

Правильность полученных результатов чаще всего определяется методом «введено-найденно». Сущность этого метода заключается в том, что в фоновый электролит вносят добавку определяемого элемента, с точно известной концентрацией. Регистрируют вольтамперограммы полученного раствора. Далее измеряют величину сигнала на вольтамперограмме и по градуировочной характеристике или уравнению регрессии определяют расчетную концентрацию анализируемого вещества. После этого определяют отклонение найденного значения (в %) концентрации аналита от заданного (введенного) значения.

1.4 Валидационные параметры количественного электрохимического анализа

1.4.1 Термины и определения

Селективность – это способность аналитической методики однозначно оценивать исследуемое вещество в присутствии других компонентов, которые могут присутствовать в анализируемом образце. Как правило, ими являются примеси, растворители, вспомогательные вещества, продукты распада и т.д.

Предел обнаружения – это наименьшая концентрация определяемого вещества в образце, которая может быть обнаружена и приближенно оценена с использованием валидируемой методики.

Аналитическая область методики – это интервал между верхним и нижним значением аналитических характеристик определяемого компонента в объекте анализа (его количества, концентрации, активности и т. п.). В этом интервале результаты, получаемые с использованием валидируемой методики, должны иметь приемлемый уровень правильности и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности [9].

Методики количественного определения должны быть применимы в интервале от 80 до 120 % от номинального значения определяемой аналитической характеристики;

Линейность методики – это наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики.

При валидации методики ее линейность в аналитической области проверяют экспериментально измерением аналитических сигналов для не менее чем 5 проб с различными концентрациями определяемого вещества. Экспериментальные данные обрабатывают методом наименьших квадратов с использованием линейной модели:

$$y = b \cdot x + a \quad (6)$$

где x – концентрация определяемого вещества, моль/л;

y – величина отклика (площадь под пиком, Кл);

b – угловой коэффициент;

a – свободный член.

Для оценки того, насколько сильно линейно связаны две переменные, необходимо указывать коэффициент детерминации, который представляет собой квадратный коэффициент корреляции Пирсона (R^2). В большинстве случаев используют линейные зависимости, отвечающие условию $R^2 \geq 0,99$.

Точность – это степень близости результата измерений к принятому опорному значению. Данная характеристика результатов количественного анализа отражает влияние случайных ошибок метода определения

Правильность методики характеризуется отклонением среднего результата определений, выполненных с ее использованием, от значения, принимаемого за истинное.

Валидируемая методика признается правильной, если значения, принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных экспериментально по данной методике.

Прецизионность – это характеристика рассеяния результатов, получаемых с использованием данной методики, относительно величины среднего результата. Мерой такого рассеяния является величина стандартного отклонения результата отдельного определения, полученная для выборки достаточно большого объема.

Прецизионность может оцениваться в трех вариантах:

- как повторяемость (сходимость);
- как внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность;
- как межлабораторная прецизионность (воспроизводимость).

Результаты оценки методики анализа по каждому из вариантов прецизионности как правило характеризуются соответствующим значением величины стандартного отклонения результата отдельного определения.

Обычно при разработке оригинальной методики определяется повторяемость (сходимость) результатов, получаемых с ее использованием. При необходимости включения разработанной методики в нормативную документацию дополнительно определяется ее внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность.

Повторяемость (сходимость) аналитической методики оценивают по независимым результатам, полученным в одинаковых регламентированных условиях в одной лаборатории (один и тот же исполнитель, одно и то же оборудование, один и тот же набор реактивов) в пределах короткого промежутка времени.

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность валидируемой методики оценивается в условиях работы одной лаборатории (разные дни, разные исполнители, разное оборудование и т. д.).

1.4.2 Диапазоны валидационных параметров методов ВА анализа

Одним из основных этапов разработки методики является установление диапазонов валидационных параметров. Диапазоны валидационных параметров количественного электрохимического анализа представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазоны валидационных параметров количественного электрохимического анализа

Параметр валидации	Диапазон параметра
1. Селективность	Растворители и реактивы, используемые в анализе и подготовке проб, не искажают результат.
2. Линейность	Коэффициент корреляции $R^2 \geq 0,990$.
3. Правильность	Среднее значение: от 99 до 101 %; Доверительный интервал среднего результата анализа должен включать 100% значение; Коэффициент вариации $\leq 2 \%$
4. Прецизионность 4.1 Повторяемость (сходимость) 4.2 Внутрилабораторная прецизионность	Коэффициент вариации $\leq 1,5 \%$ Коэффициент вариации по двум выборкам $\leq 2,5 \%$; F- и t- критерии менее табличных.

1.5 Инструментальное обеспечение вольтамперометрического метода

1.5.1 Электроды

Одним из перспективных направлений развития биосенсорных электрохимических технологий является использование электродов, полученных методом трафаретной печати. Они предназначены для проведения любых электрохимических исследований с использованием трехэлектродной

системы, а также для создания на их основе различных аналитических систем. Рабочий и вспомогательный электроды изготовлены из углеродной пасты, электрод сравнения – из серебряной, на рисунке 5 показан внешний вид CSPE.



Рисунок 5 – Внешний вид электрода, изготовленного методом трафаретной печати

CSPE электроды получили широкое применение благодаря своей универсальности, низкой стоимости, простоте технологии их изготовления. Одноразовое применение позволяет не беспокоиться о чистоте анализа, регенерации рабочей поверхности электродов, которая обычно достигается при шлифовке и полировке. Использование CSPE приводит к уменьшению объема пробы, требуемой для проведения единичного анализа.

1.5.2. Модификаторы электродов

Планарные углеродные электроды, как и объемные, подлежат модифицированию для повышения селективности, чувствительности анализа, и снижения предела обнаружения анализируемого вещества. Химически модифицированные электроды (ХМЭ) – это сенсоры нового поколения, обладающие поистине уникальными свойствами. К модифицированным электродам предъявляются весьма высокие требования: прежде всего, электроды, должны обеспечить протекание электрохимической реакции с высокой скоростью при малых перенапряжениях, быть инертными к воздействию среды и селективными по отношению к определяемым веществам.

Чаще всего на поверхность электрода наносят специальным образом химическое соединение – модификатор, который придает электроду новые электрокаталитические свойства [10]. Модификатор – вещество, позволяющее получить сигнал/отклик определяемого соединения или желательное изменение сигнала относительно немодифицированного электрода (повышение селективности и чувствительности и др.).

В качестве модификаторов используются:

1) Биологические и органические молекулы.

Для детекции различных молекул – мишеней и преобразования биохимического отклика в биохимии и медицине применяют синтетические рецепторы, ферменты, ДНК-модификаторы (аптамеры). Модифицированные электроды на их основе дают специфические отклики на различные субстраты, в том числе и на биологически активные вещества.

2) Неорганические соли и комплексы

Гексацианометаллы (ГЦМ) – это класс неорганических соединений с общей формулой $M_a^I[M^II(CN)_6]_b \cdot xH_2O$, где M^I и M^{II} ионы переходных металлов с различными степенями окисления. Изменения свойств ХМЭ на основе пленок ГЦМ достигается за счет варьирования природы металла, а также за счет включения переходного и платинового металла в состав ГЦМ.

3) Полимерные пленки.

Один из распространенных способов изготовления ХМЭ с электрокаталитическими свойствами состоит в нанесении полимерных пленок на поверхность твердых электродов [11-12]. Преимуществами полимерных пленок являются химическая и физическая устойчивость, хорошая проводимость, а также простота изготовления и возможность многократного применения.

На свойства полимерных пленок влияют различные факторы: структура полимера, условия получения пленки (природа материала подложки, природа растворителя, состав электролита, природа противоиона и pH раствора), а также

условия регистрации электрохимического сигнала (область потенциалов, природа фонового электролита) [13-14].

4) Полимерные пленки с включенными частицами благородных металлов и биметаллов на их основе.

Полимерные пленки с включенными редокс-системами являются перспективными электродными модификаторами. Проводящие полимеры электроактивны в достаточно широкой области потенциалов, где реализуется медиаторный механизм переноса заряда, но при определенных потенциалах они теряют электронную проводимость, сама пленка сохраняет ионную проводимость.

5) Наночастицы металлов

Как известно, золото и металлы платиновой подгруппы являются универсальными катализаторами для многих электрохимических реакций [15]. В основном наноразмерными считаются частицы от 1 до 100 нм [16]. Особенностью наночастиц является высокая удельная активность. На ХМЭ с наночастицами возможно протекание реакций, практически не идущих на поверхности макрокристаллов.

Широкое практическое применение получили электроды с нанесенными металлами-катализаторами на различные носители или подложки. Они проявляют особые адсорбционные и электрокаталитические свойства, отличные от компактных и дисперсных металлов. Наблюдаемые эффекты связывают с изменением кристаллической ориентацией частиц и их электронным строением.

В данной работе предлагается использовать наночастицы меди полученные методом лазерной абляции объемной металлической мишени в чистых растворителях. Наночастицы меди получили широкое распространение в микробиологии, медицине, катализе благодаря своей низкой стоимости, высокой электропроводности и нетоксичности. Метод лазерной абляции позволяет получать высокочистые коллоидные растворы без примесей или остатков продуктов реакции [17]. С помощью данного метода можно получать

частицы с достаточно узким распределением по размерам, ожидаемой формы, с заранее заданной концентрацией и воспроизводимыми результатами от синтеза к синтезу. При осаждении наночастицы распределяются по поверхности электрода достаточно равномерно. Количество частиц на поверхности регулируется не только их концентрацией в дисперсии, а также количеством нанесенной дисперсии на электрод. Нами ранее было показано, что наночастицы, полученные методом лазерной абляции, могут использоваться в качестве модификатора для разделения пиков электропревращения аскорбиновой кислоты и дофамина [18].

1.5.3 Анализируемые вещества

Широкое практическое применение и биологическая важность различных органических соединений определяет необходимость разработки новых эффективных, чувствительных и селективных способов их определения. В данной ВКР исследовалось электрохимическое определение таких важных органических и биологически активных соединений, как аскорбиновая кислота, никотиновая кислота и глюкоза.

1) Аскорбиновая кислота (витамин С)

Аскорбиновая кислота (АК) – органическое соединение, являющееся одним из основных веществ в рационе человека. АК необходима для нормального функционирования соединительной и костной ткани, кровеносных сосудов, десен, способствует усвоению организмом железа [19]. В фармакологии витамин С применяется как укрепляющее иммунную систему средство при различных заболеваниях (ОРВИ, грипп), как профилактическое средство при недостаточном поступлении с пищей, а также он участвует в регулировании свертываемости крови, регенерации тканей и в синтезе стероидных гормонов [20]. При его нехватке человек испытывает сонливость, вялость, кровоточивость десен, склонность к частым простудам. Согласно последним исследованиям, проведенными учеными Салфордского

университета в Манчестере, аскорбиновая кислота нарушает метаболизм раковых стволовых клеток и останавливает их рост [21].

Аскорбиновая кислота, кроме прочего, используется в косметических препаратах для замедления старения, заживления и восстановления защитных функций кожи, в частности, для восстановления увлажненности и упругости кожи после воздействия солнечных лучей. В состав кремов ее также вводят для осветления кожи и борьбы с пигментными пятнами [22]. В пищевой промышленности АК используется в качестве пищевой добавки (E300), для предотвращения окисления и изменения состава продуктов и увеличения срока их хранения. Аскорбиновая кислота присутствует во многих биологических жидкостях (внутриклеточная жидкость центральной нервной системы, сыворотка крови и т.д.), соках, безалкогольных напитках, фармпрепаратах и др. Поэтому поиск быстрых и чувствительных способов определения АК для контроля ее содержания крайне важен.

Большинство методов количественного определения аскорбиновой кислоты основаны на ее восстановительных свойствах [23]. Традиционные титриметрические методы сложно использовать при анализе растворов, имеющих собственную интенсивную окраску. Также для определения аскорбиновой кислоты используется фотометрический метод. Визуальные методы колориметрии субъективны и имеют высокую погрешность измерений, поскольку зависят от степени чувствительности человеческого глаза. Пользуясь колориметрическими методами нельзя автоматизировать анализ, что является крайне утомительным при масштабной работе.

В последнее годы множество исследований были посвящены электрохимическому определению аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота окисляется на твердых электродах необратимо. Адсорбция продуктов электрохимической реакции на поверхности твердого электрода приводит к плохой воспроизводимости электрохимического сигнала. Перенапряжение на графитовом электроде по сравнению со стандартным водородным электродом составляет более 900 мВ. Эти факторы влияют на характеристики погрешности

определения АК. Использование химически модифицированных электродов позволяет снизить перенапряжение, а также значительно улучшить форму сигнала и повысить чувствительность определения этого биологически важного соединения. В связи с этим, в последнее время, большое число опубликованных работ посвящено поиску ХМЭ для определения аскорбиновой кислоты. На ХМЭ повышается чувствительность определения АК по сравнению с немодифицированным электродом, снижается предел обнаружения, и обеспечиваются высокие метрологические показатели анализа. Таким образом, разработка быстрой и высокочувствительной методики определения АК с использованием модифицированных электродов крайне важна.

2) Никотиновая кислота (витамин В₃, витамин РР)

Витамин В₃ необходим для обеспечения организма энергией, для работы сердца и центральной нервной системы, он участвует в метаболизме жиров, белков, аминокислот, пуринов, а также в тканевом дыхании и гликогенолизе [24]. Никотиновая кислота приводит к расширению мелких кровеносных сосудов (в том числе, сосудов головного мозга) и улучшает микроциркуляцию крови. Гиповитаминоз витамина В₃ приводит к пеллагре – заболеванию, симптомами которого являются дерматит, диарея, деменция. Имеются показания к применению витамина В₃ при гастроэктомии, болезни Хартнупа (наследственное заболевание, сопровождающееся нарушением усвоения некоторых аминокислот), заболевании желудочно-кишечного тракта. А также в состоянии повышенной потребности организма в витамине РР: длительная лихорадка, заболевания гепатобилиарной области (острые и хронические гепатиты, цирроз печени), хронические инфекции, злокачественные опухоли, длительный стресс, беременность (особенно на фоне никотиновой и лекарственной зависимости, многоплодная беременность), период лактации [25].

В пищевой промышленности НК используется в качестве пищевой добавки (Е375), как антиоксидант, регулятор кислотности и стабилизатор окраски.

Возможна передозировка никотиновой кислотой при приёме высоких доз внутрь, в результате чего происходит гиперемия кожи лица и верхней половины туловища, головокружение, «приливы» крови к коже лица, аритмия, ортостатическая гипотензия, диарея, сухость кожи и слизистой оболочки глаз, гипергликемия, тошнота, рвота, изнуряющий кожный зуд. Большое количество НК может порождать опасные для жизни ядовитые реакции, приводящие к утолщению сетчатки глаза и повышению уровня мочевой кислоты в крови [26].

Таким образом, определение никотиновой кислоты в биологических образцах, пищевых продуктах, питательных веществах и фармацевтических препаратах стало предметом растущего интереса в связи с её воздействием на здоровье человека.

Для количественного определения НК применяются такие аналитические методы, как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [27], ионная хроматография [28], мицеллярная электрокинетическая капиллярная хроматография, мицеллярная жидкостная хроматография, капиллярный электрофорез [29]. Существенным недостатком этих методик является необходимость в дорогостоящем и сложном оборудовании. Кроме того данные методы имеют низкую чувствительность и селективность.

В литературе представлены методики определения НК в натуральных продуктах и фармацевтических препаратах с использованием колориметрических [30], спектроскопических и титриметрических методов [31]. Недостатками данных методов количественного определения никотиновой кислоты являются сложность и длительность анализа. При длительном сравнении интенсивности окраски растворов глаз человека утомляется и увеличивается погрешность измерений.

Электрохимические методы являются хорошей альтернативой вышеперечисленным методам из-за их простоты, высокой чувствительности, экспрессности и низкой стоимости. Однако НК имеет низкую электроактивность на традиционных электродах, и механизм ее реакции является сложным, а существующие методики определения имеют низкие

метрологические показатели. Поэтому актуальной задачей является разработка методики количественного определения НК вольтамперометрическим методом с использованием модифицированных электродов.

3) Глюкоза

Глюкоза представляет собой моносахарид, который служит универсальным источником энергии для человека. Являясь важнейшим питательным веществом для центральной нервной системы, глюкоза обеспечивает нормальное функционирование организма при сильной физической, интеллектуальной и эмоциональной нагрузке [32].

Главные функции глюкозы – питательная и энергетическая. Благодаря этим функциям она поддерживает биение сердца, дыхание, мышечное сокращение, работу мозга, нервной системы и регулирует температуру тела. Именно глюкоза восстанавливает силы после напряжения и после тяжёлых болезней, которые истощают организм. Ещё одним положительным фактором, можно назвать выведение токсичных веществ, глюкоза нейтрализует их.

Повышенное содержание глюкозы в крови увеличивает выработку инсулина, что ведет к интенсивной работе поджелудочной железы «на износ». В результате орган начинает истощаться, возникает риск развития сахарного диабета, страдает иммунитет. При достижении концентрации глюкозы в крови до 10 мМ, печень перестает справляться со своими функциями, нарушается работа кровеносной системы. Переизбыток сахара преобразовывается в триглицериды (жировые клетки), которые провоцируют появление ишемической болезни, атеросклероза, гипертонии, инфаркт сердца, кровоизлияния в мозг.

Для организма человека опасно и падение уровня глюкозы в крови, которое приводит к недостаточному питанию мозга, ослаблению организма, что рано или поздно может стать причиной обморока. Человек теряет силы, появляется мышечная слабость, апатия, физические нагрузки даются с трудом, ухудшается координация, возникает ощущение беспокойства, помрачение

сознания. Клетки находятся в состоянии голодания, замедляется их деление и регенерация, возрастает риск отмирания тканей.

Глюкоза применяется в медицине для приготовления лечебных препаратов, консервирования крови, внутривенного вливания и т. д.

Из всего вышесказанного следует, что количественное определение глюкозы во многих областях, в особенности, в клинической диагностике (сахарный диабет является распространенным хроническим заболеванием) является важнейшей задачей. Для подтверждения эффективности лечения при сахарном диабете проводят частое тестирование уровня глюкозы в крови пациента. Поэтому большое количество работ направлено на создание высокочувствительного, точного, селективного и недорогого метода количественного определения уровня глюкозы. Большинство биосенсоров для мониторинга глюкозы используют глюкозооксидазы или ферменты глюкозодегидрогеназы из-за их превосходной биоактивности и высокой чувствительности [33]. Однако глюкозооксидаза чувствительна к различным факторам окружающей среды, таким как температура, влажность и значение pH [34]. Эти факторы являются источниками грубых погрешностей в столь важном анализе. Для того чтобы устранить эти недостатки, необходимо использовать неферментные датчики глюкозы с высокой биосовместимостью и чувствительностью. В качестве неферментных датчиков применяются электроды, модифицированные такими металлами, как золото, платина, никель, оксиды и сплавы [35-36]. Несмотря на то, что эти материалы обладают высокой электроактивностью и стабильностью, они имеют такие недостатки как высокая стоимость и возможность отравления ионами хлора, что сильно ограничивает их применение в составе датчиков для определения глюкозы. Поэтому разработка точной, недорогой и экологически безопасной методики определения глюкозы на неферментных сенсорных системах является актуальной задачей.

2 Экспериментальная часть

2.1 Реализация метода

Для всех анализируемых соединений фоновый электролит подбирался экспериментальным путем. Каждое измерение дублировалось не менее пяти раз.

Условия получения циклических вольтамперограмм:

1) Аскорбиновая кислота

- Фоновый электролит 0,1 М серная кислота;
- Диапазон сканирования потенциала от 0 до 1,2 В (анодная развертка);
- Скорость изменения потенциала 30 мВ/с.

2) Никотиновая кислота

- Фоновый электролит 0,1 М серная кислота;
- Диапазон сканирования потенциала от 0 до минус 1,2 В (катодная развертка);
- Скорость изменения потенциала 50 мВ/с.

3) Глюкоза

- Фоновый электролит смесь растворов 0,01 М серной кислоты и 0,01 М хлорида калия;
- Диапазон сканирования потенциала от минус 0,2 до 0,9 В (анодная развертка);
- Скорость изменения потенциала 30 мВ/с.

2.2 Оборудование

1) Измерительный прибор

Электрохимические исследования проводились на потенциостате-гальваностате Р8-напо (ООО “Элинс”, г. Черноголовка) с 3-х электродной ячейкой. Внешний вид оборудования представлен на рисунке 6.



Рисунок 6 –Потенциостат-гальваностат P8-nano

Основные характеристики прибора представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Основные характеристики потенциостата-гальваностата P8-nano

Характеристика	Значение
Подключение ячейки	2, 3, 4 электрода
Максимальная поляризующая мощность	1 Вт
Максимальная нагрузочная мощность	0,5 Вт
Напряжение, потенциалы:	
Максимальное поляризующее напряжение	± 15 В
Диапазоны потенциала/ их разрешения	15 В / 600 мкВ 2,4 В / 80 мкВ
Точность задания – регистрации потенциала	0,075 % от макс. диапазона для старшего диапазона 0,025 % от макс. диапазона для младшего диапазона
Входное сопротивление электрометра потенциала / входной ток	10^{11} Ом / менее 10 нА
Скорость развертки потенциала в потоковом режиме: - старший диапазон - младший диапазон	10 мкВ/с – 5,5 В/с 10 мкВ/с – 0,76 В/с
Токовые характеристики	
Максимальный поляризующий ток	$\pm 0,05$ А
Максимальный нагрузочный ток	$\pm 0,025$ А
Диапазоны тока	6 диапазонов: 50 мА – 500 нА
Разрешение диапазонов тока	1 / 30000 от максимума диапазона
Минимальный рекомендуемый рабочий ток	500 нА

У измерительного прибора Р8-напо имеются следующие диапазоны тока, и соответствующие им максимальные погрешности:

- 1) 50000 мкА – 0,1 %;
- 2) 5000 мкА – 0,05 %;
- 3) 500 мкА – 0,05 %;
- 4) 50000 нА – 0,05 %;
- 5) 5000 нА – 0,05 %;
- 6) 500 нА – 0,1 %.

В данной работе измерения проводились в диапазоне тока 500 мкА.

Измерительный прибор предназначен для работ от сети переменного тока с напряжением (220 ± 22) В и частотой 50-60 Гц. Условия эксплуатации прибора представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Условия эксплуатации измерительного прибора

Температура окружающего воздуха, °С	23 ± 4
Относительная влажность окружающего воздуха, %	от 30 до 80
Атмосферное давление, кПа (мм рт. ст.)	от 84 до 106 (от 630 до 795)

2) Дополнительное оборудование

В качестве дополнительного оборудования для выполнения работ по разработке методики определения органических и биологически активных соединений вольтамперометрическим методом использовались:

- Весы аналитические Shimadzu AY-120 1-го класса точности по ГОСТ 24104;
- Магнитная мешалка ПЭ-6100 «Экрос» (ТУ 4321-009-23050963-2007) для перемешивания анализируемого соединения, вносимого в водный раствор фонового электролита;
- Ультразвуковая ванна (УЗВ-0,5, мощностью 50 Вт) «Сапфир» по ГОСТ Р МЭК 60335-2-15, для обработки спиртовой дисперсии меди, перед ее нанесением на рабочий электрод.
- Микроскоп Vega 3, Tescan для исследования поверхности CSPE, модифицированного наночастицами меди.

3) Посуда

- пипетка вместимостью 1 см³ по ГОСТ 29227;
- цилиндры мерные вместимостью 10, 25 см³ по ГОСТ 1770;
- колбы мерные плоскодонные из термически и химически стойкого стекла вместимостью 50, 100, 250 см³ по ГОСТ 1770;
- бюксы лабораторные (низкие) вместимостью 25 см³ по ГОСТ 25336;
- флаконы для лекарственных средств (пеницилинки) вместимостью 10 см³ по ГОСТ Р 53416;
- дозаторы «Ленпипет» переменного объема (10 – 100) мкл и (0,5 – 10) мкл.

2.3 Реактивы и рабочие растворы

Для проведения эксперимента были использованы следующие реактивы марки «ос.ч.» или «х.ч.»:

- серная кислота по ГОСТ 14262;
- аскорбиновая кислота по ГОСТ 4815;
- никотиновая кислота ТУ 59-67-6;
- глюкоза по ГОСТ ГОСТ 6038;
- дистиллированная вода.

Для приготовления фонового электролита (0,1 М серной кислоты) 1,41 мл концентрированной серной кислоты (плотностью 1,84 г/см³) помещали в мерную колбу вместимостью 250 см³, предварительно заполненную на 2/3 водой, после чего доливали водой до метки.

Начальные растворы аскорбиновой кислоты концентрацией 0,0018 М и 0,018 М готовили посредством разбавления навесок аскорбиновой кислоты в 0,1 М серной кислоте.

Для построения градуировочных зависимостей использовались растворы АК следующих концентраций (на фоне 0,1 М серной кислоты): 5, 10, 50, 100, 250 мкМ, растворы готовились добавлением исходных растворов в электрохимическую ячейку.

Начальные растворы никотиновой кислоты концентрацией 0,0018 М и 0,018 М готовили посредством разбавления навесок никотиновой кислоты в 0,1 М серной кислоте.

Для построения градуировочных зависимостей использовались растворы НК следующих концентраций (на фоне 0,1 М серной кислоты): 5, 10, 50, 100, 200 мкМ, растворы готовились добавлением исходных растворов в электрохимическую ячейку.

Начальный раствор глюкозы концентрацией 0,5 М готовили посредством разбавления навески глюкозы в смеси 0,01 М раствора серной кислоты и 0,01 М раствора хлорида калия.

Для построения градуировочных зависимостей использовались растворы глюкозы следующих концентраций (на фоне 0,01 М раствора серной кислоты и 0,01 М раствора хлорида калия): 1, 3, 8, 10, 20 мМ, растворы готовились добавлением исходных растворов в электрохимическую ячейку.

2.4 Условия окружающей среды

При проведении испытаний осуществлялся постоянный мониторинг температуры и влажности в помещении. Целью мониторинга является обеспечение условий для стабильной работы измерительного оборудования и хранения анализов. Кроме того при изменении температуры изменяется коэффициент диффузии ионов, что может привести к искажению результатов количественного анализа.

2.5 Модифицирование электрода

Наночастицы меди были получены методом импульсной лазерной абляции объемной медной мишени (99,95 %) в спирте с использованием Nd:YAG лазера (1064 нм, 7 нс, 10 Гц). Концентрация наночастиц в дисперсии, зависящая от времени абляции, определялась по потере массы мишени. В

данной работе использовалась дисперсия, фотография которой представлена на рисунке 7, с концентрацией частиц 0,05 г/л.

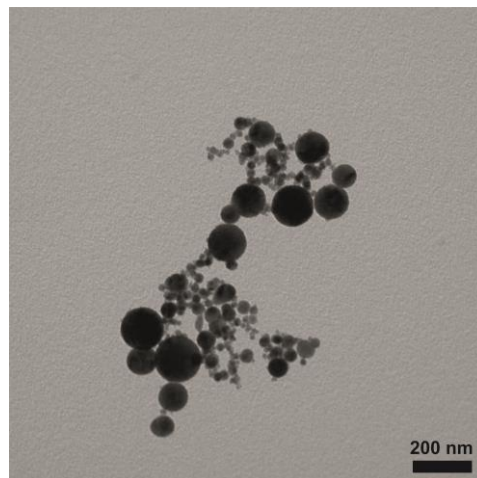


Рисунок 7 – Наночастицы меди, полученные методом импульсной лазерной абляции в спирте: (а) фотография дисперсии; (б) ПЭМ-изображение наночастиц из дисперсии.

Модифицирование поверхности рабочего электрода заключалось в нанесении капли (2 мкл) дисперсии меди на поверхность РЕ с помощью дозатора, и высушивании поверхности электрода при комнатной температуре. После удаления растворителя модифицированный планарный графитовый электрод (Cu/CSPE) готов к эксплуатации.

3 Результаты экспериментальных исследований

3.1 Характеристика поверхности модифицированных электродов

Поверхность графитового электрода, модифицированного наночастицами меди, была исследована с помощью растровой электронной микроскопии. Полученные изображения поверхности представлены на рисунке 8.

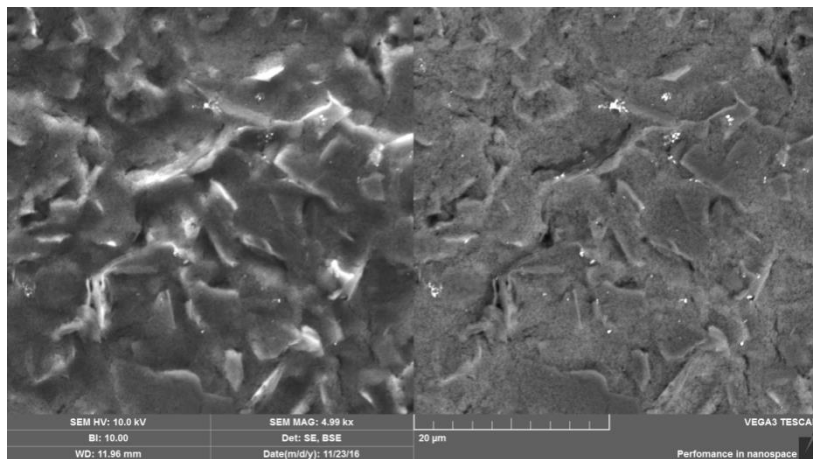


Рисунок 8 – РЭМ-изображения поверхности CSPE, модифицированного наночастицами меди

Можно отметить, что наночастицы меди располагаются на поверхности электрода не сплошным слоем, а островками-агломератами. Однако такое расположение достаточно равномерно. Агломераты, превышающие размером 2 мкм, не наблюдаются. В целом, агломераты наночастиц располагаются на неровностях поверхности электрода, на выступах, границах структурных элементов материала электрода. Можно предположить, что вероятность внесения систематической погрешности после модифицирования электрода наночастицами меди незначительна.

3.2 Результаты ВА определения аскорбиновой кислоты на Cu/CSPE

Вольтамперометрическое определение аскорбиновой кислоты проводили в 0,1 М растворе серной кислоты. На рисунке 9 приведена ЦВА полученная в растворе аскорбиновой кислоты с концентрацией 5 мкМ на

чистом планарном графитовом электроде (кривая 1) и на электроде, модифицированном наночастицами меди (кривая 2).

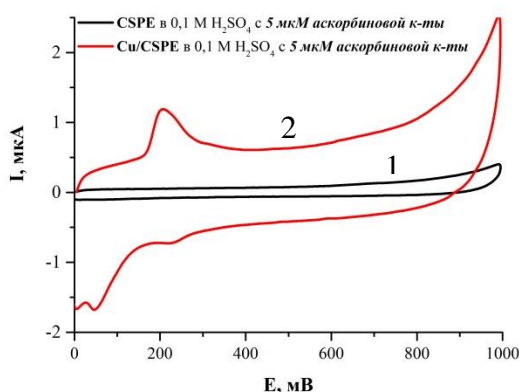
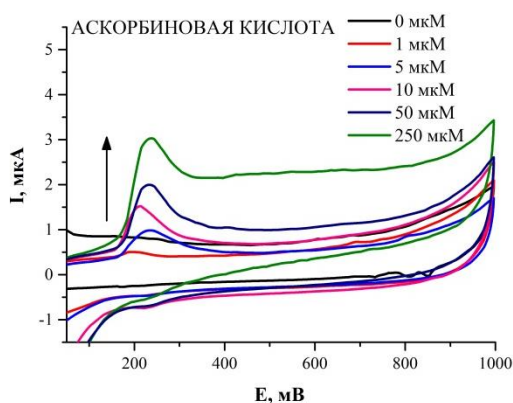


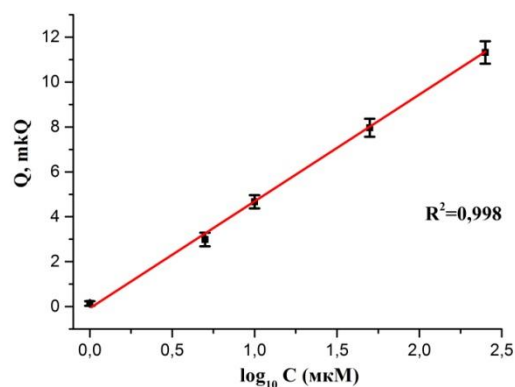
Рисунок 9 – ЦВА аскорбиновой кислоты концентрацией 5 мкМ полученные на чистом CSPE (1) и Cu/ CSPE (2)

Видно, что модифицирование электрода приводит к появлению пика окисления АК, по сравнению с чистым CSPE. Из чего следует, что при модифицировании электрода наночастицами меди появляется возможность определения АК в данных условиях. Экспериментально было установлено, что предел обнаружения аскорбиновой кислоты равен 0,5 мкМ.

На рисунке 10 а приведены циклические вольтамперограммы, полученные на Cu/CSPE в растворах аскорбиновой кислоты разных концентраций в диапазоне от 1 до 250 мкМ на фоне 0,1 М H₂SO₄.



а



б

Рисунок 10 – (а) ЦВА в растворах аскорбиновой кислоты на фоне 0,1 М H₂SO₄; (б) градуировочная зависимость площади аналитического пика от концентрации аскорбиновой кислоты в растворе на Cu/CSPE

Данный диапазон концентраций АК выбран учетом реального содержания аскорбиновой кислоты в биологических жидкостях человека и

лекарственных препаратах. Как видно на рисунке 10 б, с ростом концентрации АК пик анодного окисления возрастает по линейному закону, коэффициент корреляции равен 0,998.

Уравнение зависимости площади под пиком от концентрации аналита:

$$Q \text{ (мкКл)} = 4,71 \times \lg C \text{ (мкМ)} - 0,04.$$

Статистические характеристики линейной зависимости приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Статистические характеристики линейной зависимости $y=b \cdot x+a$

Статистические характеристики	Результаты
Угловой коэффициент (b)	4,71
Доверительный интервал Δb	0,13
Свободный член (a)	– 0,04
Доверительный интервал Δa	0,01

Т.к. результаты вольтамперометрического определения аскорбиновой кислоты являются косвенным, они были обработаны в соответствии с МИ 2083 «Измерения косвенные. Определение результатов измерений и оценивание их погрешностей». Источниками систематической погрешности в вольтамперометрическом анализе являются измерительный прибор ($\delta=0,05 \%$) и микродозатор с помощью которого вносится аликвота анализируемого соединения в электрохимическую ячейку ($\delta=0,1 \%$).

Полученные результаты:

- Точность количественного определения аскорбиновой кислоты определяли по формулам 6-10:

$$\tilde{A} = \sum_{i=1}^m b_i \cdot \tilde{a}_i, \quad (6)$$

$$S(\tilde{A}) = \sqrt{\sum_{i=1}^m b_i^2 \cdot S^2(\tilde{a}_i)}, \quad (7)$$

$$\varepsilon(P) = t_q \cdot S(\tilde{A}), \quad (8)$$

$$\theta(P) = k \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^m b_i^2 \cdot \theta_i^2}, \quad (9)$$

$$\Delta(P) = K \cdot (\varepsilon(P) + \theta(P)) \quad (10)$$

где \tilde{A} – результат косвенного измерения;

$S(\tilde{A})$ – среднее квадратическое отклонение результата косвенного измерения;

$\varepsilon(P)$ – доверительные границы случайной погрешности результата измерения;

$\theta(P)$ – доверительные границы неисключенной систематической погрешности результата измерения;

k – поправочный коэффициент;

$\Delta(P)$ – доверительную границу погрешности результата косвенного измерения;

K – коэффициент, зависящий от доверительной вероятности и от отношения $\theta(P)/S(\tilde{A})$.

Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении точности результатов количественного определения аскорбиновой кислоты, представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении точности результатов измерения

С, М	$S(\tilde{A})$	$\varepsilon(P)$	$\theta(P)$	$\Delta(P)$, М
5×10^{-6}	0,069	0,19	0,043	$0,19 \times 10^{-6}$
1×10^{-5}	0,032	0,088		$0,11 \times 10^{-5}$
1×10^{-4}	0,048	0,13		$0,14 \times 10^{-4}$

- Правильность полученных результатов оценивали двумя методами: методом «введено-найдено» и методом добавок. Результаты определения аскорбиновой кислоты в модельных растворах по методу «введено-найдено» приведены в таблице 6.

Таблица 6 – Результаты вольтамперометрического определения АК в модельных растворах методом «введено-найдено»

Введенная концентрация АК, моль/л	Полученные площади под пиком, мкКл	Расчетная концентрация АК, моль/л	Отклик от введенной концентрации, %
5×10^{-6}	3,26	$4,96 \times 10^{-6}$	99,2
	3,29	$5,03 \times 10^{-6}$	100,6
	3,27	$4,98 \times 10^{-6}$	99,6
1×10^{-5}	4,79	$1,01 \times 10^{-5}$	100,9
	4,75	$0,99 \times 10^{-5}$	99,1
	4,81	$1,03 \times 10^{-5}$	101,8
9×10^{-5}	9,48	$8,91 \times 10^{-5}$	98,9
	9,49	$8,95 \times 10^{-5}$	99,4
	9,51	$9,03 \times 10^{-5}$	100,3

По полученным данным проводили оценку показателя правильности методики анализа:

1) Рассчитывали среднее арифметическое (\bar{X}) и выборочную дисперсию (S) результатов единичного анализа содержания аскорбиновой кислоты в пробе, которые были получены в условиях повторяемости:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}, \quad (11)$$

$$S(x) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N-1}}, \quad (12)$$

где N – число результатов единичного анализа, N=5.

2) Коэффициент вариации рассчитывали по формуле 13:

$$V = \frac{S(x)}{\bar{X}} \times 100 \%. \quad (13)$$

3) Доверительный интервал ΔX находили по формуле 14:

$$\Delta X = \frac{S(x) \times t(p, F)}{\sqrt{N}}, \quad (14)$$

где t(P,f) – коэффициент Стьюдента, при P=0,95 и f=8 коэффициент Стьюдента равен 2,31.

Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении правильности методики анализа, представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении правильности методики анализа

Статистические характеристики	Результаты
Среднее значение, % от введенной концентрации АК	99,9
Стандартное отклонение	0,82
Коэффициент вариации, %	0,82
Доверительный интервал, % от введенной концентрации АК	$99,9 \pm 0,8$

Коэффициент вариации менее 2 %. Среднее значение составило 99,9 %, полученное значение входит в установленный диапазон параметра правильности для ВА измерений. Следовательно, методика соответствует критериям приемлемости по параметру правильность.

Дополнительную оценку показателя правильности методики количественного определения аскорбиновой кислоты проводили на основе экспериментальных исследований с применением метода добавок. В стаканчик с раствором 0,1 М серной кислоты объемом 18 мл вносили контрольную пробу аскорбиновой кислоты объемом 10 мкл ($C_{\text{АК}} = 0,009 \text{ М}$) и снимали ЦВА. Контрольная проба содержала 10 мкМ аскорбиновой кислоты. Далее в этот же раствор делали добавку 30 мкл аскорбиновой кислоты ($C_{\text{АК}} = 0,009 \text{ М}$) и регистрировали вольтамперограммы в тех же условиях измерений. Общий объем анализируемого раствора был равен 18,04 мл. Полученные ЦВА представлены на рисунке 11.

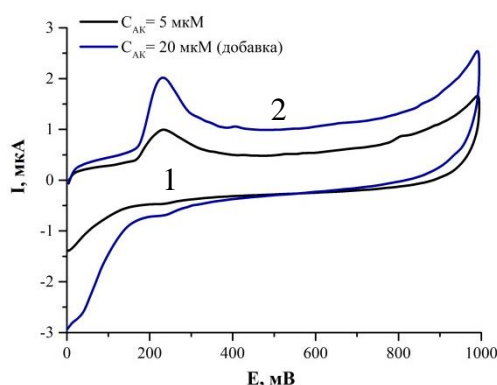


Рисунок 11 – ЦВА в растворах контрольной пробы АК (1) и добавки АК (2) на фоне 0,1 М H_2SO_4

По полученным вольтамперограммам рассчитывали площадь под пиком контрольной пробы ($Q=3,28$ мкКл) и пробы с добавкой ($Q=13,03$ мкКл).

Расчет концентрации аскорбиновой кислоты в контрольной пробе проводили по формуле 5.

$$C_x = \frac{Q_n \times C_d \times V_d}{(Q_d - Q_n) \times V_{\text{общ}}} = \frac{3,28 \times 0,009 \times 0,03}{(13,03 - 3,28) \times 18,04} = 5,03 \text{ (мкМ)}.$$

Полученное значение концентрации аскорбиновой кислоты составляет 100,6 % от контрольного значения, это значение входит в допустимый диапазон параметра правильности ВА измерений (от 99 до 101 %).

- Повторяемость разработанной методики количественного определения аскорбиновой кислоты оценивали по результатам анализа 5 проб 100 мкМ раствора АК. Полученные результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Результаты, полученные при установлении повторяемости (сходимости) методики

№ пробы	Среднее значение концентрации, мкМ	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	Доверительный интервал, мкМ
Проба 1	98,57	0,49	0,49	98,6±1,3
Проба 2	99,63	0,43	0,43	99,6±1,1
Проба 3	99,28	0,38	0,38	99,3±0,9
Проба 4	100,62	0,58	0,57	100,6±1,4
Проба 5	99,41	0,71	0,71	99,4±1,8

Коэффициент вариации менее 1,5 %. Из этого следует то, что методика соответствует критериям по параметру повторяемость (сходимость).

- Для оценки внутрилабораторной прецизионности исследовали данные выборки, полученные при оценке показателя повторяемости (выборка 1) и данные полученные в другой день (выборка 2). Полученные результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты установления внутрилабораторной прецизионности

№ пробы	День 1	День 2
	Среднее значение концентрации, мкМ	Среднее значение концентрации, мкМ
Проба 1	98,57	99,63
Проба 2	99,63	100,05
Проба 3	99,28	99,08
Проба 4	100,62	99,89
Проба 5	99,41	100,13

Результаты статистической обработки экспериментальных данных представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении внутрилабораторной прецизионности

Статистические характеристики	День 1	День 2
Среднее значение, мкМ	99,51	99,76
Стандартное отклонение	0,74	0,42
Коэффициент вариации, %	0,74	0,42
Коэффициент вариации по двум сериям, %	0,59	
Вычисленное значение F-критерия (табличное значение $F=6,39$ при $P=0,95$, $f_1=4$, $f_2=4$)	3,11	
Вычисленное значение t-критерия (табличное значение $t=2,36$ при $P=0,95$, $f=8$)	0,29	

Коэффициент вариации для первой и второй выборок менее 1,5 %. Коэффициент вариации для двух выборок менее 2,5 %. Рассчитанные значения F- и t-критериев меньше табличных значений. Из этого следует то, что методика соответствует критериям приемлемости по параметру внутрилабораторная прецизионность.

Вывод: в рамках исследуемого диапазона концентраций аскорбиновой кислоты (от 1 до 250 мкМ) была подтверждена правильность, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность предлагаемой методики количественного определения АК в водных растворах с использованием модифицированных электродов.

Результаты определения никотиновой кислоты и глюкозы были обработаны идентично схеме обработки результатов определения аскорбиновой кислоты.

3.3 Результаты ВА определения никотиновой кислоты на Cu/CSPE

Вольтамперометрическое определение никотиновой кислоты проводили в 0,1 М растворе серной кислоты. На рисунке 12 приведена ЦВА полученная в растворе никотиновой кислоты с концентрацией 5 мкМ на чистом планарном графитовом электроде (кривая 1) и на электроде, модифицированном наночастицами меди (кривая 2).

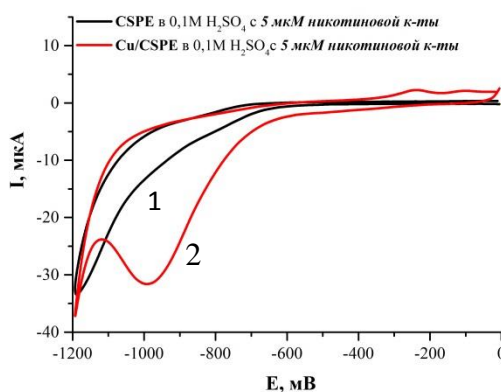


Рисунок 12 – ЦВА никотиновой кислоты концентрацией 5 мкМ полученные на чистом CSPE (1) и Cu/ CSPE (2)

На рисунке 12 видно, что при использовании не модифицированного электрода на ЦВА нет пика восстановления НК, в отличие от ЦВА полученной на Cu/CSPE. При модифицировании поверхности электрода наночастицами меди на ЦВА появляется пика восстановления НК в области минус 950 мВ. Таким образом, модифицирование электрода дает возможность определения НК в данных условиях. Экспериментально было установлено, что предел обнаружения никотиновой кислоты равен 0,5 мкМ.

На рисунке 13 а приведены циклические вольтамперограммы, полученные на Cu/CSPE в растворах никотиновой кислоты разных концентраций в диапазоне от 1 до 200 мкМ на фоне 0,1 М H₂SO₄.

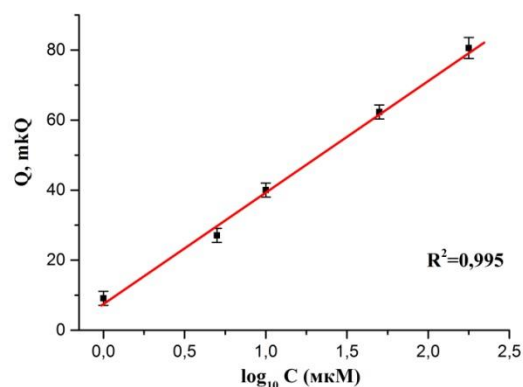
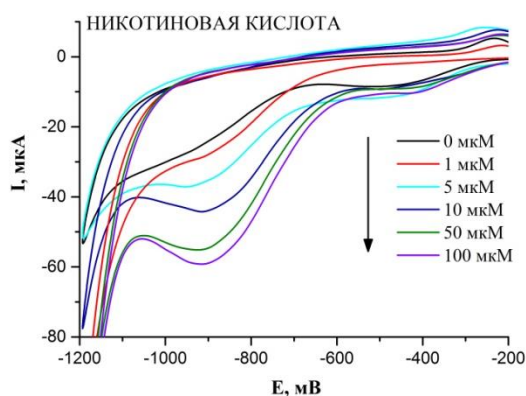


Рисунок 13 – (а) ЦВА в растворах никотиновой кислоты на фоне 0,1 М H_2SO_4 ; (б) градуировочная зависимость площади аналитического пика от концентрации никотиновой кислоты в растворе на Cu/CSPE

Данный концентрационный диапазон выбран с учетом реального содержания никотиновой кислоты в биологических жидкостях человека и лекарственных препаратах. С ростом концентрации НК площадь под пиком катодного восстановления возрастает по линейному закону, коэффициент корреляции равен 0,995 (рисунок 13 б). В таблице 11 представлены результаты обработки экспериментальных данных, которые были получены при изучении зависимости площади под пиком катодного восстановления НК от концентрации никотиновой кислоты.

Таблица 11 – Статистические характеристики линейной зависимости $y=b \cdot x+a$

Статистические характеристики	Результаты
Уравнение прямой	$Q \text{ (мкКл)} = 32,3 \times \lg C \text{ (мкМ)} + 7,37$.
Угловой коэффициент (b)	32,3
Доверительный интервал Δb	1,1
Свободный член (a)	7,37
Доверительный интервал Δa	0,13

- Точность количественного определения никотиновой кислоты определяли по формулам 6-10. Результаты статистической обработки экспериментальных данных представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении точности результатов измерения

C, М	$S(\tilde{A})$	$\varepsilon(P)$	$\theta(P)$	$\Delta(P)$, М
5×10^{-6}	0,074	0,21	0,043	$0,21 \times 10^{-6}$
1×10^{-5}	0,068	0,19		$0,19 \times 10^{-5}$
1×10^{-4}	0,056	0,16		$0,16 \times 10^{-4}$

• Правильность полученных результатов оценивали методом «введено-найдено». Результаты определения никотиновой кислоты в модельных растворах по методу «введено-найдено» приведены в таблице 13.

Таблица 13 – Результаты вольтамперометрического определения НК в модельных растворах методом «введено-найдено»

Введенная концентрация АК, моль/л	Полученные площади под пиком, мКл	Расчетная концентрация АК, моль/л	Отклик от введенной концентрации, %
2×10^{-6}	16,91	$1,98 \times 10^{-6}$	98,8
	17,21	$2,02 \times 10^{-6}$	100,9
	17,23	$2,04 \times 10^{-6}$	101,1
1×10^{-5}	39,71	$1,04 \times 10^{-6}$	100,5
	39,62	$0,99 \times 10^{-6}$	99,8
	39,73	$1,03 \times 10^{-6}$	100,6
5×10^{-5}	62,19	$5,03 \times 10^{-6}$	100,1
	61,99	$4,98 \times 10^{-6}$	98,6
	62,08	$4,96 \times 10^{-6}$	99,2

По полученным данным проводили оценку показателя правильности методики анализа. Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении правильности методики анализа, представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении правильности методики анализа

Статистические характеристики	Результаты
Среднее значение, % от введенной концентрации АК	99,95
Стандартное отклонение	0,92
Коэффициент вариации, %	0,92
Доверительный интервал, % от введенной концентрации НК	$99,95 \pm 0,97$

Коэффициент вариации менее 2%. Среднее значение составило 99,95%, полученное значение входит в установленный диапазон параметра правильности для ВА измерений. Следовательно, методика соответствует критериям приемлемости по параметру правильность.

- Повторяемость разработанной методики количественного определения никотиновой кислоты оценивали по результатам анализа 5 проб 100 мкМ раствора НК. Полученные результаты представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Результаты, полученные при установлении повторяемости (сходимости) методики

№ пробы	Среднее значение концентрации, мкМ	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	Доверительный интервал, мкМ
Проба 1	99,93	0,27	0,27	99,9±0,4
Проба 2	100,04	0,16	0,16	100,04±0,26
Проба 3	99,62	0,52	0,52	99,6±0,8
Проба 4	98,84	0,41	0,41	98,8±0,6
Проба 5	100,13	0,25	0,25	100,13±0,39

Коэффициент вариации менее 1,5 %. Из этого следует то, что методика соответствует критериям по параметру повторяемость (сходимость).

- Для оценки внутрилабораторной прецизионности исследовали данные выборки, полученные при оценке показателя повторяемости (выборка 1) и данные полученные в другой день (выборка 2). Полученные результаты представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Результаты установления внутрилабораторной прецизионности

№ пробы	День 1	День 2
	Среднее значение концентрации, мкМ	Среднее значение концентрации, мкМ
Проба 1	99,97	100,12
Проба 2	100,04	99,89
Проба 3	99,62	100,06
Проба 4	98,85	99,83
Проба 5	100,13	99,24

Результаты статистической обработки экспериментальных данных представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении внутрилабораторной прецизионности

Статистические характеристики	День 1	День 2
Среднее значение, мкМ	99,72	99,83
Стандартное отклонение	0,53	0,35
Коэффициент вариации, %	0,53	0,35
Коэффициент вариации по двум сериям, %	0,43	
Вычисленное значение F-критерия (табличное значение $F=6,39$ при $P=0,95$, $f_1=4$, $f_2=4$)	2,25	
Вычисленное значение t-критерия (табличное значение $t=2,36$ при $P=0,95$, $f=8$)	0,38	

Коэффициент вариации для первой и второй выборок менее 1,5 %. Коэффициент вариации для двух выборок менее 2,5 %. Рассчитанные значения F- и t-критериев меньше табличных значений. Из этого следует то, что методика соответствует критериям приемлемости по параметру внутрилабораторная прецизионность.

Вывод: в рамках исследуемого диапазона концентраций никотиновой кислоты (от 1 до 200 мкМ) была подтверждена правильность, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность предлагаемой методики количественного определения НК в водных растворах с использованием модифицированных электродов.

3.4 Результаты ВА определения глюкозы на Cu/CSPE

Вольтамперометрическое определение глюкозы проводили в смеси 0,01 М раствора серной кислоты и 0,01 М раствора хлорида калия. На рисунке 14 приведена ЦВА полученная в растворе глюкозы с концентрацией

5 мМ на чистом планарном графитовом электроде (кривая 1) и на электроде, модифицированном наночастицами меди (кривая 2).

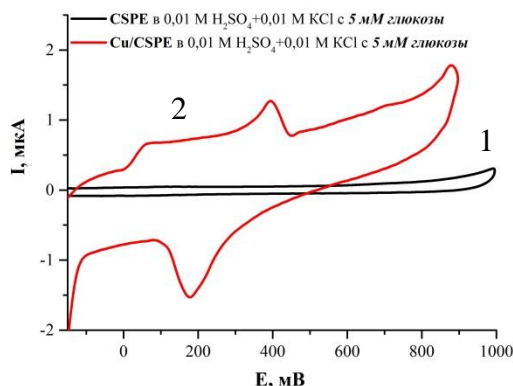
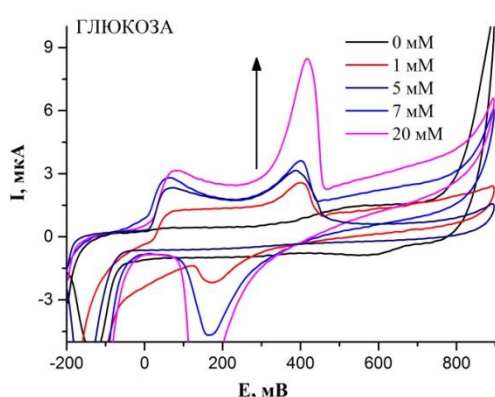


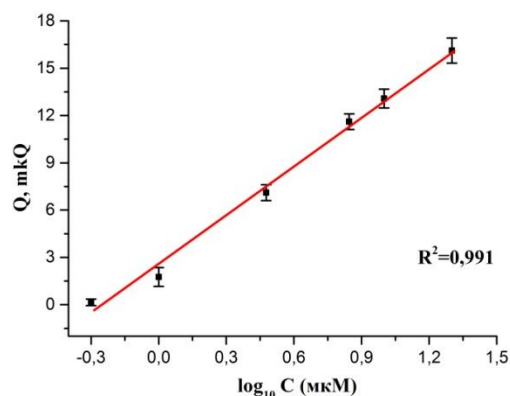
Рисунок 14 – ЦВА глюкозы концентрацией 5 мМ полученные на чистом CSPE (1) и Cu/CSPE (2)

Видно, что модифицирование поверхности электрода наночастицами меди приводит к появлению пиков окисления и восстановления глюкозы на ЦВА, в отличие от случая с применением чистого CSPE. Следовательно, при модифицировании поверхности электрода появляется возможность определения глюкозы при данных условиях анализа. Экспериментально было установлено, что предел обнаружения глюкозы равен 0,5 мМ.

На рисунке 15 а представлены циклические вольтамперограммы, полученные на Cu/CSPE в растворах глюкозы разных концентраций в диапазоне от 0,5 до 20 мМ на фоне 0,01 М H_2SO_4 + 0,01 М KCl.



а



б

Рисунок 15 – (а) ЦВА в растворах глюкозы на фоне 0,01 М H_2SO_4 + 0,01 М KCl; (б) градуировочная зависимость площади аналитического пика от концентрации глюкозы в растворе на Cu/CSPE

Данный концентрационный диапазон был выбран учетом реального содержания глюкозы в крови человека. С ростом концентрации глюкозы площадь под пиком анодного окисления (400 мВ) и катодного восстановления (–200 мВ) возрастает по линейному закону, коэффициент корреляции равен 0,991 (рисунок 15 б). Экспериментальным путем за информационный пик был выбран пик окисления глюкозы. В таблице 18 представлены результаты обработки экспериментальных данных, которые были получены при изучении зависимости площади под пиком анодного окисления (400 мВ) глюкозы от концентрации глюкозы.

Таблица 18 – Статистические характеристики линейной зависимости $y=b \cdot x+a$

Статистические характеристики	Результаты
Уравнение прямой	$Q \text{ (мкКл)} = 10,41 \times \lg C \text{ (мкМ)} + 2,54.$
Угловой коэффициент (b)	10,4
Доверительный интервал Δb	0,4
Свободный член (a)	2,54
Доверительный интервал Δa	0,09

- Точность количественного определения глюкозы определяли по формулам 6-10. Результаты статистической обработки экспериментальных данных представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении точности результатов измерения

$C, \text{ М}$	$S(\tilde{A})$	$\varepsilon(P)$	$\theta(P)$	$\Delta(P), \text{ М}$
1×10^{-3}	0,045	0,13	0,043	$0,13 \times 10^{-3}$
5×10^{-3}	0,068	0,19		$0,19 \times 10^{-3}$
9×10^{-3}	0,076	0,21		$0,21 \times 10^{-3}$

- Правильность полученных результатов оценивали методом «введено-найдено». Результаты определения никотиновой кислоты в модельных растворах по методу «введено-найдено» приведены в таблице 20.

Таблица 20 – Результаты вольтамперометрического определения глюкозы в модельных растворах методом «введено-найдено»

Введенная концентрация глюкозы, моль/л	Полученные площади под пиком, мкКл	Расчетная концентрация глюкозы, моль/л	Отклик от введенной концентрации, %
1×10^{-3}	2,47	$0,98 \times 10^{-3}$	98,5
	2,58	$1,01 \times 10^{-3}$	100,9
	2,64	$1,02 \times 10^{-3}$	102,2
3×10^{-3}	7,49	$2,99 \times 10^{-3}$	99,6
	7,56	$3,04 \times 10^{-3}$	101,2
	7,44	$2,96 \times 10^{-3}$	98,5
8×10^{-3}	11,89	$7,91 \times 10^{-3}$	98,9
	11,94	$7,99 \times 10^{-3}$	99,9
	11,98	$8,07 \times 10^{-3}$	100,8

По полученным данным проводили оценку показателя правильности методики анализа. Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении правильности методики анализа, представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении правильности методики анализа

Статистические характеристики	Результаты
Среднее значение, % от введенной концентрации АК	100,06
Стандартное отклонение	1,31
Коэффициент вариации, %	1,31
Доверительный интервал, % от введенной концентрации АК	100 ± 1

Коэффициент вариации менее 2 %. Среднее значение составило 100,06 %, полученное значение входит в установленный диапазон параметра правильности для ВА измерений. Следовательно, методика соответствует критериям приемлемости по параметру правильность.

- Повторяемость разработанной методики количественного определения глюкозы оценивали по результатам анализа 5 проб 10 мМ раствора глюкозы. Полученные результаты представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Результаты, полученные при установлении повторяемости (сходимости) методики

№ пробы	Среднее значение концентрации, мМ	Стандартное отклонение	Коэффициент вариации, %	Доверительный интервал, мМ
Проба 1	9,78	0,27	0,27	9,8±0,4
Проба 2	9,62	0,69	0,72	9,62±1,08
Проба 3	10,02	0,14	0,14	10,02±0,22
Проба 4	10,29	0,28	0,27	10,3±0,4
Проба 5	9,54	0,29	0,29	9,5±0,5

Коэффициент вариации менее 1,5 %. Из этого следует то, что методика соответствует критериям по параметру повторяемость (сходимость).

- Для оценки внутрилабораторной прецизионности исследовали данные выборки, полученные при оценке показателя повторяемости (выборка 1) и данные полученные в другой день (выборка 2). Полученные результаты представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Результаты установления внутрилабораторной прецизионности

№ пробы	День 1	День 2
	Среднее значение концентрации, мМ	Среднее значение концентрации, мМ
Проба 1	9,78	9,63
Проба 2	9,62	10,05
Проба 3	10,02	9,28
Проба 4	10,19	9,89
Проба 5	9,54	10,11

Результаты статистической обработки экспериментальных данных представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении внутрилабораторной прецизионности

Статистические характеристики	День 1	День 2
Среднее значение, мкМ	9,83	9,79
Стандартное отклонение	0,27	0,34
Коэффициент вариации, %	0,28	0,34
Коэффициент вариации по двум сериям, %	0,76	
Вычисленное значение F-критерия (табличное значение F=6,39 при P=0,95, f ₁ =4, f ₂ =4)	1,57	
Вычисленное значение t-критерия (табличное значение t=2,36 при P=0,95, f=8)	0,65	

Коэффициент вариации для первой и второй выборок менее 1,5 %. Коэффициент вариации для двух выборок менее 2,5 %. Рассчитанные значения F- и t-критериев меньше табличных значений. Из этого следует то, что методика соответствует критериям приемлемости по параметру внутрилабораторная прецизионность.

Вывод: в рамках исследуемого концентрационного диапазона глюкозы (от 0,5 до 20 мМ) была подтверждена правильность, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность предлагаемой методики количественного определения глюкозы в водных растворах с использованием электродов модифицированных наночастицами меди.

3.5 Оценка возможности совместного определения АК, НК и глюкозы с использованием модифицированных электродов

С целью изучения селективности предлагаемых методик было исследовано совместное определение рассматриваемых органических соединений в фоновом растворе 0,1 М серной кислоты.

При совместном присутствии аскорбиновой (50 мкМ) и никотиновой (10 мкМ) кислот в растворе 0,1 М серной кислоты была получена циклическая вольтамперограмма представленная на рисунке 16.

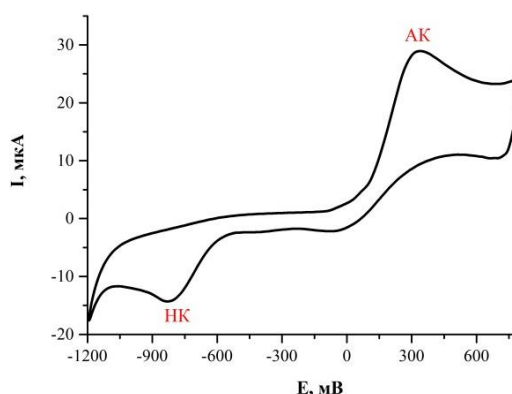


Рисунок 16 – ЦВА аскорбиновой кислоты с концентрацией 50 мкМ и никотиновой кислоты с концентрацией 10 мкМ полученные на Cu/CSPE в 0,1 М H_2SO_4

Происходит сдвиг пика восстановления НК в область минус 850 мВ, однако это не оказывает значительного влияния на количественное определение НК. Т.к. пики характерные для каждого соединения лежат в разных областях, они не перекрываются и не затрудняют количественное определение каждого из этих соединений.

Иная картина наблюдалась в ситуации определения глюкозы в присутствии аскорбиновой кислоты в анализируемый раствор. Полученная вольтамперограмма показана на рисунке 17.

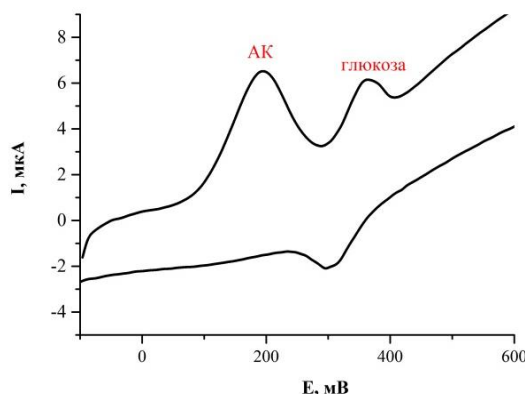


Рисунок 17 – ЦВА аскорбиновой кислоты с концентрацией 250 мкМ и глюкозы с концентрацией 10 мМ полученные на Cu/CSPE в 0,1 М H_2SO_4

Пики окисления аскорбиновой кислоты и глюкозы имеют близкие значения потенциалов, однако это не повлияло на их определение при использовании электродов модифицированных наночастицами меди. Для разделения сигналов этих соединений был осуществлен экспериментальный подбор подходящих условий.

Предлагаемой методики количественного определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы в водных растворах, с использованием электродов модифицированных наночастицами меди соответствует критериям приемлемости по параметру селективность.

3.6 Выводы по разделу

Исследуемые методики количественного определения биологически активных соединений в водных растворах с использованием планарных графитовых электродов, модифицированных наночастицами меди, удовлетворяют всем установленным показателям точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа.

Показатели качества методик количественного определения анализируемых веществ следующие:

1) Для определения аскорбиновой кислоты в водных растворах в диапазоне концентраций от 1 до 250 мкМ коэффициент вариации в тесте правильности составил 0,82 %, коэффициент корреляции в тесте линейности равен 0,998, коэффициент вариации в тесте прецизионности составил 0,59 %, значения F-и t-критериев меньше табличных.

2) Для определения никотиновой кислоты в водных растворах в диапазоне концентраций от 1 до 200 мкМ коэффициент вариации в тесте правильности составил 0,92 %, коэффициент корреляции в тесте линейности равен 0,995, коэффициент вариации в тесте прецизионности составил 0,43 %, значения F-и t-критериев меньше табличных.

3) Для определения глюкозы в водных растворах в диапазоне концентраций от 1 до 20 мМ коэффициент вариации в тесте правильности составил 1,31 %, коэффициент корреляции в тесте линейности равен 0,991, коэффициент вариации в тесте прецизионности составил 0,76 %, значения F-и t-критериев меньше табличных.

4) Установлена возможность определения НК и АК, АК и глюкозы в водных растворах при совместном присутствии.

4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

В настоящее время перспективность научного исследования определяется не столько масштабом открытия, оценить которое на первых этапах жизненного цикла высокотехнологического и ресурсоэффективного продукта бывает достаточно трудно, сколько коммерческой ценностью разработки. Оценка коммерческой ценности разработки является необходимым условием при поиске источников финансирования для проведения научного исследования и коммерциализации его результатов. Это важно для разработчиков, которые должны представлять состояние и перспективы проводимых научных исследований.

Технико-экономическое обоснование научно-исследовательских работ проводится с целью определения и анализа трудовых и денежных затрат, направленных на их реализацию, а также уровня их научно-технической результативности.

Объектом диссертации являлись планарные графитовые электроды, модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, приготовленной методом лазерной абляции.

Тема диссертации посвящена исследованию метрологического обеспечения количественного определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы в водных средах.

4.1 Организация и планирование работ

При организации процесса реализации конкретного проекта необходимо оптимально планировать занятость каждого из его участников и сроки проведения отдельных работ. В данном пункте составляется полный перечень проводимых работ, определяются их исполнители и рациональная продолжительность.

В качестве исполнителей выступают:

- инженер (И) – в его роли действует исполнитель ВКР;
- научный руководитель (НР).

Перечень работ указан в таблице 25.

Таблица 25 – Перечень работ и продолжительность их выполнения

Этапы работы	Исполнители	Загрузка исполнителей
Постановка целей и задач, получение исходных данных	НР	НР – 100%
Составление и утверждение ТЗ	НР, И	НР – 100% И – 10%
Подбор и изучение материалов по тематике	НР, И	НР – 30% И – 100%
Разработка календарного плана	НР, И	НР – 100% И – 10%
Обсуждение литературы	НР, И	НР – 30% И – 100%
Проведение эксперимента	И	И – 100%
Оформление расчетно-пояснительной записки	И	И – 100%
Оформление графического материала	И	И – 100%
Подведение итогов	НР, И	НР – 60% И – 100%

4.1.1 Продолжительность этапов работ

Расчет продолжительности этапов работ осуществляется двумя методами:

- технико-экономическим;
- опытно-статистическим.

Так как исполнитель работы зачастую не располагает соответствующими нормативами, то используется опытно-статистический метод, который реализуется двумя способами:

- аналоговый;
- экспертный.

Аналоговый способ привлекает внешней простотой и околонулевыми затратами, но возможен только при наличии в поле зрения исполнителя ВКР не устаревшего аналога, т.е. проекта в целом или хотя бы его фрагмента, который по всем значимым параметрам идентичен выполняемой ВКР. В большинстве случаев он может применяться только локально – для отдельных элементов (этапов работы).

Экспертный способ используется при отсутствии вышеуказанных информационных ресурсов и предполагает генерацию необходимых количественных оценок специалистами конкретной предметной области, опирающимися на их профессиональный опыт и эрудицию. Для определения ожидаемого значения продолжительности работ $t_{ож}$ применяется вероятностный метод – метод двух оценок t_{min} и t_{max} .

$$t_{ож} = \frac{3 \cdot t_{min} + 2 \cdot t_{max}}{5}, \quad (15)$$

где t_{min} – минимальная трудоемкость работ, чел/дн.;

t_{max} – максимальная трудоемкость работ, чел/дн.

Для построения линейного графика необходимо рассчитать длительность этапов в рабочих днях, а затем перевести в календарные дни. Расчет продолжительности выполнения каждого этапа в рабочих днях ведется по формуле 16:

$$T_{РД} = \frac{t_{ож}}{K_{ВН}} \cdot K_{Д}, \quad (16)$$

где $t_{ож}$ – трудоемкость работы, чел/дн.;

$K_{ВН}$ – коэффициент выполнения работ ($K_{ВН} = 1$);

$K_{Д}$ – коэффициент, учитывающий дополнительное время на компенсации и согласование работ ($K_{Д} = 1$).

Расчет продолжительности этапа в календарных днях ведется по формуле 17:

$$T_{КД} = T_{РД} \cdot T_{К}, \quad (17)$$

где $T_{РД}$ – продолжительность выполнения этапа в рабочих днях;

$T_{КД}$ – продолжительность выполнения этапа в календарных днях;

T_K – коэффициент календарности.

Коэффициент календарности рассчитывается по формуле 18:

$$T_K = \frac{T_{КАЛ}}{T_{КАЛ} - T_{ВД} - T_{ПД}}, \quad (18)$$

где $T_{КАЛ}$ – календарные дни ($T_{КАЛ} = 365$);

$T_{ВД}$ – выходные дни ($T_{ВД} = 103$);

$T_{ПД}$ – праздничные дни ($T_{ПД} = 15$).

$$T_K = \frac{365}{365 - 118} = 1,48$$

В таблице 26 приведена длительность этапов работ и их трудоемкость по исполнителям, занятым на каждом этапе.

Таблица 26 – Трудозатраты на выполнение проекта

Этап	Исполнители	Продолжительность работ, дни			Длительность работ, чел/дн.			
					$T_{РД}$		$T_{КД}$	
		t_{min}	t_{max}	$t_{ож}$	НР	И	НР	И
Постановка задачи	НР	3	5	3,8	3,8	–	5,63	–
Разработка и утверждение технического задания	НР, И	5	7	5,8	5,8	0,58	8,58	0,86
Подбор и изучение материалов по тематике	НР, И	20	30	24	7,2	24	10,66	35,52
Разработка календарного плана	НР, И	3	5	3,8	3,8	0,38	5,64	0,56
Обсуждение литературы	НР, И	10	14	11,6	3,48	11,6	5,15	17,17
Проведение эксперимента	И	28	30	28,8	–	28,8	–	42,61
Оформление расчетно-пояснительной записки	И	7	10	8,2	–	8,2	–	12,34
Оформление графического материала	И	5	10	7	–	7	–	10,35
Подведение итогов	НР, И	6	9	7,2	4,32	7,2	6,39	10,66
Итого:				100,2	28,4	87,76	42,04	129,88

Для удобства построения линейного графика было выполнено округление данных из таблицы 2 до целых чисел ($T_{КД}$).

Таблица 27 – Линейный график работ

№	Вид работ	Исполнители		Продолжительность выполнения работ																	
		НР	И	сен		окт		нояб		дек		янв		фев		март		апр		май	
				1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1	Составление технического задания	7	–	■																	
2	Разработка и утверждение ТЗ	10	1		■	■															
3	Подбор и изучение материалов по тематике	13	43			■	■	■	■	■	■										
4	Разработка календарного плана	7	1							■	■	■									
5	Обсуждение литературы	6	21								■	■	■	■							
6	Проведение эксперимента	–	51									■	■	■	■	■					
7	Оформление расчетно-пояснительной записки	–	15													■	■				
8	Оформление графического материала	–	13														■	■			
9	Подведение итогов	8	13															■	■	■	■

НР – ■ И – ■

4.1.2 Расчет накопления готовности проекта

Величина накопления готовности работы показывает, на сколько процентов по окончанию текущего (*i*-го) этапа выполнен общий объем работ по проекту в целом. Степень готовности определяется по формуле 19:

$$CG_i = \frac{TP_i^H}{TP_{общ}} = \frac{\sum_{k=1}^i TP_k}{TP_{общ}} = \frac{\sum_{k=1}^i \sum_{j=1}^m TP_{km}}{\sum_{k=1}^i \sum_{j=1}^m TP_{km}}, \quad (19)$$

где $TP_{общ}$ – общая трудоемкость проекта;

TP_i (TP_k) – трудоемкость *i*-го (*k*-го) этапа проекта;

TP_i^H – накопленная трудоемкость *i*-го этапа проекта по его завершению;

TP_{ij} (TP_{kj}) – трудоемкость работ, выполняемых *j*-м участником на *i*-м этапе.

Применительно к таблице 24 величины TP_{ij} (TP_{kj}) находятся в столбцах 6 (*j*=1) и 7 (*j*=2). $TP_{общ}$ равна сумме чисел из итоговых клеток этих столбцов. Полученные данные представлены в таблице 28.

Таблица 28 – Нарастание технической готовности работы и удельный вес каждого этапа

Этапы работы	TP_i , %	CG_i , %
Постановка целей и задач, получение исходных данных	3,79	3,79
Составление и утверждение ТЗ	9,58	5,79
Подбор и изучение материалов по тематике	33,53	23,95
Разработка календарного плана	37,32	3,79
Обсуждение литературы	48,90	11,58
Проведение эксперимента	77,63	28,74
Оформление расчетно-пояснительной записки	85,81	8,18
Оформление графического материала	92,8	6,99
Подведение итогов	100	7,18

4.2 Расчет сметы затрат на выполнение проекта

В состав затрат на создание проекта включается стоимость всех расходов, необходимых для реализации комплекса работ, составляющих содержание данной разработки. Расчет сметной стоимости на выполнение данной разработки производится по следующим статьям затрат:

- материалы и покупные изделия;
- заработная плата;
- социальный налог;
- расходы на электроэнергию (без освещения);
- амортизационные отчисления;
- командировочные расходы;
- оплата услуг связи;
- арендная плата за пользование имуществом;
- прочие услуги (сторонних организаций);
- прочие (накладные расходы) расходы.

4.2.1 Расчет затрат на материалы

К данной статье расходов относится стоимость материалов, покупных изделий, полуфабрикатов и других материальных ценностей, расходуемых непосредственно в процессе выполнения работ над объектом проектирования. Сюда же относятся специально приобретенное оборудование, инструменты и прочие объекты, относимые к основным средствам, стоимостью до 40 000 руб. включительно. Расчет затрат на материалы необходимые при выполнении ВКР представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Расчет затрат на материалы

Наименование материала	Цена за ед., руб.	Кол-во	Сумма, руб.
Бумага для принтера формата А4	218	1 уп.	218
Серная кислота	250	0,1 л	25
Электроды (CSPE)	50	90 шт.	4500
Дистиллированная вода	30	1 уп.	30
Аскорбиновая кислота	3	10 уп.	30
Никотиновая кислота	30	3 уп.	90
Глюкоза	70	0,25 уп.	26,6
Наночастицы меди	50	10 мл	50
Перчатки резиновые	5	1 пара	5
Итого:			4974,6

Допустим, что ТЗР составляют 5 % от отпускной цены материалов, тогда расходы на материалы с учетом транспортно-заготовительных расходов равны: $C_{\text{мат}} = 4974,6 \times 1,05 = 5223,3$ руб.

4.2.2 Расчет заработной платы

Данная статья расходов включает заработную плату научного руководителя и исполнителя проекта (инженера). Расчет основной заработной платы выполняется на основе трудоемкости выполнения каждого этапа и величины месячного оклада исполнителя.

Среднедневная тарифная заработная плата ($ЗП_{\text{дн-т}}$) рассчитывается по формуле 20, в которой учитывается, что в году 247 рабочих дней и, следовательно, в месяце в среднем 20,58 рабочих дня (при пятидневной рабочей неделе).

$$ЗП_{\text{дн-т}} = \frac{\text{Месячный оклад}}{20,58} \quad (20)$$

Расчеты затрат на полную заработную плату приведены в таблице 30. Затраты времени по каждому исполнителю в рабочих днях, с округлением до целого, взяты из таблицы 24. Для учета в ее составе премий, дополнительной зарплаты

и районной надбавки используется следующий ряд коэффициентов: $K_{\text{пр}} = 1,1$; $K_{\text{доп.ЗП}} = 1,113$; $K_p = 1,3$.

Таблица 30 – Затраты на основную заработную плату

Исполнитель	Оклад, руб./мес.	Среднедневная ставка, руб./день	Затраты времени, дни	Коэффициент	Фонд з/платы, руб.
НР	25000	1214,77	29	1,62	57069,89
И	10000	485,91	88	1,62	69271,33
Итого:					126341,22

Таким образом, для перехода от тарифной (базовой) суммы заработка исполнителя, связанной с участием в проекте, к соответствующему полному заработку (зарплатной части сметы) необходимо первую умножить на интегральный коэффициент $K_{\text{и}} = 1,1 \times 1,113 \times 1,3 = 1,62$. Вышеуказанное значение $K_{\text{доп.ЗП}}$ применяется при пятидневной рабочей неделе.

Таким образом, затраты на основную заработную плату составили $C_{\text{осн}} = 126341,22$ руб.

4.2.3 Расчет отчислений с заработной платы

Затраты на единый социальный налог (ЕСН), включающий в себя отчисления в пенсионный фонд, на социальное и медицинское страхование, составляют 30 % от полной заработной платы по проекту, т.е. $C_{\text{соц.}} = C_{\text{зп}} \times 0,30$.

Таким образом, отчисления из заработной платы составили:

$$C_{\text{соц.}} = 126341,22 \times 0,30 = 37902,36 \text{ руб.}$$

4.2.4 Расчет затрат на электроэнергию

Данный вид расходов включает в себя затраты на электроэнергию, потраченную в ходе выполнения проекта на работу используемого оборудования, рассчитываемые по формуле 21:

$$C_{\text{эл.об.}} = P_{\text{об}} \times t_{\text{об}} \times Ц_{\text{э}} \quad (21)$$

где $P_{\text{ОБ}}$ – мощность, потребляемая оборудованием, кВт;

$\text{Ц}_{\text{Э}}$ – тариф на 1 кВт·час;

$t_{\text{об}}$ – время работы оборудования, час.

Для ТГУ $\text{Ц}_{\text{Э}} = 5,782$ руб./кВт·час (с НДС).

Время работы оборудования вычисляется на основе итоговых данных для инженера ($T_{\text{РД}}$) из расчета, что продолжительность рабочего дня равна 8 часов.

$$t_{\text{об}} = T_{\text{РД}} \times K_t, \quad (22)$$

где $K_t \leq 1$ – коэффициент использования оборудования по времени, равный отношению времени его работы в процессе выполнения проекта к $T_{\text{РД}}$, определяется исполнителем самостоятельно.

В ряде случаев возможно определение $t_{\text{об}}$ путем прямого учета, особенно при ограниченном использовании соответствующего оборудования.

Мощность, потребляемая оборудованием, определяется по формуле 23:

$$P_{\text{ОБ}} = P_{\text{НОМ.}} \times K_C \quad (23)$$

где $P_{\text{НОМ.}}$ – номинальная мощность оборудования, кВт;

$K_C \leq 1$ – коэффициент загрузки, зависящий от средней степени использования номинальной мощности. Для технологического оборудования малой мощности $K_C = 1$.

Затраты на электроэнергию для технологических целей приведены в таблице 31.

Таблица 31 – Затраты на электроэнергию для технологических целей

Наименование оборудования	Время работы оборудования $t_{\text{ОБ}}$, час	Потребляемая мощность $P_{\text{ОБ}}$, кВт	Затраты $\text{Э}_{\text{ОБ}}$, руб.
Персональный компьютер	704	0,3	1221,16
Измерительный прибор (потенциостат-гальваностат)	90	0,008	4,16
Итого:			1225,32

4.2.5 Расчет амортизационных расходов

В статье «Амортизационные отчисления» рассчитывается амортизация оборудования, используемого во время выполнения проекта.

Амортизационные отчисления рассчитываются на время использования ЭВМ по формуле 24:

$$C_{AM} = \frac{H_A \times Ц_{ОБ} \times t_{рф} \times n}{F_d}, \quad (24)$$

где H_A – годовая норма амортизации единицы оборудования, $H_A = 25\%$;

$Ц_{ОБ}$ – балансная стоимость единицы оборудования с учетом ТЗР,
 $Ц_{ОБ}(\text{ПК}) = 20000$ руб., $Ц_{ОБ}(\text{измерительного прибора}) = 89000$ руб.;

F_d – действительный годовой фонд времени работы соответствующего оборудования, $F_d = 247 \times 8 = 1976$ ч;

$t_{рф}$ – фактическое время работы оборудования в ходе выполнения проекта,

$t_{рф}(\text{ПК}) = 704$ ч, $t_{рф}(\text{измерительного прибора}) = 90$ ч;

n – число задействованных однотипных единиц оборудования.

$$\text{Для ПК } C_{AM} = \frac{0,4 \times 20000 \times 704}{1976} = 2850,20;$$

$$\text{Для измерительного прибора } C_{AM} = \frac{0,4 \times 89000 \times 90}{1976} = 1621,46.$$

Итого начислено амортизации 4471,66.

4.2.6 Расчет прочих расходов

В статье «Прочие расходы» отражены расходы на выполнение проекта, которые не учтены в предыдущих статьях, их следует принять равными 10% от суммы всех предыдущих расходов, т.е.

$$C_{\text{проч.}} = (C_{\text{мат}} + C_{\text{зп}} + C_{\text{соц}} + C_{\text{эл.об.}} + C_{\text{ам}}) \times 0,1;$$

$$C_{\text{проч.}} = (5223,3 + 126341,22 + 37902,36 + 1225,32 + 4471,66) \times 0,1 = 6146,38 \text{ руб.}$$

4.2.7 Расчет общей себестоимости разработки

Проведя расчет сметы затрат на разработку, можно определить общую стоимость разработки проекта, которая представлена в таблице 32.

Таблица 32 – Смета затрат на разработку проекта

Статья затрат	Условное обозначение	Сумма, руб.
Материалы и покупные изделия	$C_{\text{мат}}$	5223,3
Основная заработная плата	$C_{\text{зп}}$	126341,22
Отчисления в социальные фонды	$C_{\text{соц}}$	37902,36
Расходы на электроэнергию	$C_{\text{эл.}}$	1225,32
Амортизационные отчисления	$C_{\text{ам}}$	4471,66
Прочие расходы	$C_{\text{проч}}$	6146,38
Итого:		181310,24

Таким образом, расходы на разработку составили $C = 181310,24$ руб.

4.2.8 Расчет прибыли

Прибыль составляет 20% от полной себестоимости проекта и равна 36262,05 рублей.

4.2.9 Расчет НДС

НДС составляет 18% от суммы затрат на разработку. Сумма НДС составила 32635,85 рублей.

4.2.10 Цена разработки НИР

Цена равна сумме полной себестоимости, прибыли и НДС, в нашем случае $C_{\text{НИР}} = 181310,24 + 36262,05 + 32635,85 = 250208,14$ рублей.

4.3 Оценка экономической эффективности проекта

Экономический эффект разработанного способа количественного определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы вольтамперометрическим методом с использованием модифицированных электродов обусловлен возможностью применения данной методики в таких учреждениях как:

- научно-медицинские лаборатории;
- клинические лаборатории;
- фармацевтические предприятия;
- пищевая промышленность;
- научно-исследовательские лаборатории

с целью анализа лекарственных препаратов, биологически-активных добавок, продуктов питания и биологических жидкостей.

Результат разработки методики носит в первую очередь социальный характер, данная методика направлена на защиту здоровья потребителя, т.к. благодаря ей можно обеспечить проведение надежных, оперативных и не затратных анализов в сфере лекарственных препаратов, БАДов и продуктов питания. Разработка способа количественного определения биологически активных соединений вольтамперометрическим методом с использованием модифицированных электродов приведет к снижению расходов на анализы и лечебный процесс – это экономический аспект разработки. Количественная оценка экономического аспекта разработки выходит далеко за рамки данной ВКР, т. к. требуется проведение специального исследования.

4.3.1 Оценка научно-технического уровня НИР

Сущность метода заключается в том, что на основе оценок признаков работы определяется интегральный показатель (индекс) ее научно-технического уровня по формуле 25:

$$K_{\text{НТУ}} = \sum_{i=1}^3 R_i \times n_i, \quad (25)$$

где $K_{\text{НТУ}}$ – коэффициент научно-технического уровня;

R_i – весовой коэффициент i -го признака научно-технического эффекта;

n_i – количественная оценка i -го признака научно-технического эффекта, в баллах.

Таблица 33 – Весовые коэффициенты признаков НТУ

Признак НТУ	Примерное значение весового коэффициента n_i
1 Уровень новизны	0,4
2 Теоретический уровень	0,1
3 Возможность реализации	0,5

Таблица 34 – Баллы для оценки уровня новизны

Уровень новизны	Характеристика уровня новизны	Баллы
Принципиально новая	Новое направление в науке и технике, новые факты и закономерности, новая теория, вещество, способ	8 – 10
Новая	По-новому объясняются те же факты, закономерности, новые понятия дополняют ранее полученные результаты	5 – 7
Относительно новая	Систематизируются, обобщаются имеющиеся сведения, новые связи между известными факторами	2 – 4
Не обладает новизной	Результат, который ранее был известен	0

Таблица 35 – Баллы значимости теоретических уровней

Теоретический уровень полученных результатов	Баллы
1 Установка закона, разработка новой теории	10
2 Глубокая разработка проблемы, многоспектральный анализ, взаимодействия между факторами с наличием объяснений	8
3 Разработка способа (алгоритм, программа и т. д.)	6
4 Элементарный анализ связей между фактами (наличие гипотезы, объяснения версии, практических рекомендаций)	2
5 Описание отдельных элементарных факторов, изложение наблюдений, опыта, результатов измерений	0,5

Таблица 36 – Возможность реализации научных, теоретических результатов по времени и масштабам

Время реализации	Баллы
В течение первых лет	10
От 5 до 10 лет	4
Свыше 10 лет	2

Результаты оценок признаков научно-технического уровня приведены в таблице 37.

Таблица 37 – Количественная оценка признаков НИОКР

Признак научно-технического эффекта НИР	Характеристика признака НИОКР	R_i
Уровень новизны	Систематизируются и обобщаются сведения, определяются пути дальнейших исследований	00,5
Теоретический уровень	Разработка способа (алгоритм, программа мероприятий, устройство, вещество и т.п.)	00,1
Возможность реализации	Время реализации в течение первых лет	00,5
Масштабы реализации	Отрасль	

Исходя из оценки признаков НИР, показатель научно-технического уровня для данного проекта составил:

$$K_{\text{нту}} = 0,4 \times 6 + 0,1 \times 6 + 0,5 \times 10 = 8$$

Таблица 38 – Оценка уровня научно-технического эффекта

Уровень НТЭ	Показатель НТЭ
Низкий	1-4
Средний	4-7
Высокий	8-10

Таким образом, исходя из данных таблицы 38, данный проект имеет высокий уровень научно-технического эффекта. Обоснование оценки признаков НИР приводится в таблице 39.

Таблица 39 – Сводная таблица оценки научно-технического уровня НИР

Фактор НТУ	Значимость	Уровень фактора	Выбранный балл	Обоснование выбранного балла
Уровень новизны	0,4	Новая	6	Описывается принципиально новые модифицированные электроды, с помощью которых осуществляется определение широко распространенных органических соединений
Теоретический уровень	0,1	Разработка методики	6	Описание процессов и алгоритмов
Возможность реализации	0,5	В течение первых лет	10	Создание и внедрение

5 Социальная ответственность

Аннотация

Согласно международному стандарту ICCSR26000:2011 под социальной ответственностью следует понимать ответственность организации за воздействие ее решений и деятельности на общество и окружающую среду через прозрачное и этическое поведение, которое:

- содействует устойчивому развитию, включая здоровье и благосостояние общества;
- учитывает ожидания заинтересованных сторон;
- соответствует применяемому законодательству и согласуется с международными нормами поведения (включая промышленную безопасность и условия труда, экологическую безопасность);
- интегрировано в деятельность всей организации и применяется во всех ее взаимоотношениях (включая промышленную безопасность и условия труда, экологическую безопасность) [37].

Введение

В данной выпускной квалификационной работе объектом исследования являлись планарные графитовые электроды, модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, приготовленной методом лазерной абляции. Электроды использовались для разработки методики количественного определения органических и биологически активных веществ в водных растворах. В ходе оценки показателей качества разработанной методики необходимо проведение работ, связанных с химическими веществами, которые могут оказать вредное воздействие на организм человека. В лабораториях используются приборы и оборудование, неосторожное обращение с которыми может стать причиной травм. В условиях

производственной деятельности безопасность работника определяется соблюдением им специальных правил.

В части социальной ответственности проанализирован рабочий кабинет сотрудников в Сибирском физико-техническом институте имени В.Д. Кузнецова ТГУ.

В данной главе будет проведен анализ опасных и вредных производственных факторов, и разработан комплекс мероприятий, который позволит свести к минимуму или ликвидировать негативные влияния факторов, возникающие при разработке методики в лабораторных условиях.

5.1 Профессиональная социальная ответственность.

5.1.1 Анализ вредных и опасных факторов, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований

Под вредным производственным фактором понимается такой производственный фактор, воздействие которого в определенных условиях приводят к заболеваниям или снижению работоспособности сотрудников. Опасный производственный фактор – производственный фактор, вследствие которого могут возникнуть травмы, острое отравлению или другое внезапное, резкое ухудшение здоровья работающего [38].

Объектом исследования в ВКР являлись планарные графитовые электроды, модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, приготовленной методом лазерной абляции, которые в свою очередь не имеют вредных и опасных факторов. Однако при выполнении работ по разработке методики определения органических соединений с их использованием на рабочий персонал влияют вредные и опасные факторы производственной среды, представленные в таблице 40.

Таблица 40 – Основные элементы производственного процесса, формирующие опасные и вредные факторы

Источник фактора, наименование видов работ	Факторы ГОСТ 12.0.003		Нормативные документы
	Вредные	Опасные	
Внутри лабораторные работы: 1. Запуск и калибровка потенциостата; 2. Отбор, хранение и подготовка пробы к анализу; 3. Измерение контролируемого параметра.	1. Шумы; 2. Освещенность рабочей зоны; 3. Микроклимат рабочего помещения; 4. Токсичные и раздражающие вещества в воздухе рабочей зоны	1. Электрический ток; 2. Пожаро- и взрывоопасность	Средства и методы защиты от шума приводятся в ГОСТ 12.1.029 ССБТ. Параметры естественного и искусственного освещения устанавливаются СП 52.13330. Параметры микроклимата устанавливаются СанПиН 2.2.4-548 . Общие требования электробезопасности приводятся в ГОСТ Р 12.1.019 ССБТ . Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны указаны в ГН 2.2.5.1313

Далее более подробно будут исследованы выявленные вредные и опасные факторы и представлены мероприятия по защите исследователя от их воздействия.

5.1.2 Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов

5.1.2.1 Воздействие шума

Шум в производственных условиях оказывает негативное влияние на здоровье человека. Шум – это механические колебания, распространяющиеся в газообразной и твердой средах.

Шум может создать стрессовую ситуацию для сотрудников, в ходе которой возможны сложные изменения в нервной системе. Эти изменения сопровождаются бессонницей, нервозностью, сонливостью, ухудшением

памяти. Люди, работающие в условиях шума, чувствуют постоянную усталость, их одолевают головные боли и головокружения. Длительное воздействие интенсивного шума (выше 80 дБ) на слух человека приводит к его частичной или полной потере. Для измерения характеристики шума на производстве существуют специальные приборы – шумомеры и анализаторы частоты шума. Уровень шума на рабочем месте не должен превышать 50 дБ по СанПиН 2.2.4/2.1.8.562 [39].

В научно-исследовательской лаборатории источниками шума являются:

- измерительный прибор (потенциостат-гальваностат);
- ультразвуковая ванна;
- вытяжная вентиляция лаборатории;
- лабораторная центрифуга;
- лазерная установка.

Для снижения уровня шума в лабораторном помещении, стены и потолок облицованы звукопоглощающими материалами.

5.1.2.2 Освещенность рабочей зоны

Фактором, определяющим благоприятные условия труда, является рациональное освещение рабочей зоны и рабочих мест. Когда правильно подобрано освещение производственных помещений, глаза работника в течение длительного времени сохраняют способность хорошо различать предметы и инструменты, необходимые для выполнения работы. Такие условия освещения способствуют снижению производственного травматизма и профессиональных заболеваний глаз.

Недостаточность освещения производственной зоны приводит к напряжению зрения, ослаблению внимания и к преждевременной утомленности. Чрезмерно яркое освещение вызывает ослепление, раздражение и резь в глазах. Неправильное направление света на рабочем месте может

создавать резкие тени, блики, дезориентировать работника. Все эти причины могут привести к несчастному случаю или профзаболеваниям, поэтому столь важен правильный расчет освещенности.

В соответствии с СанПиН 2.2.2/2.4.1340 рабочие столы следует размещать таким образом, чтобы естественный свет падал преимущественно слева [40]. Освещенность на поверхности стола в зоне размещения рабочего документа должна быть от 300 до 500 лк. Освещение не должно создавать бликов на поверхности экрана.

В рассматриваемом рабочем помещении применяется совмещенное освещение. Основным источником освещения является 6 люминесцентных светильников с зеркальными решетками, имеющие габаритные размеры длина – 1,24 м, ширина – 0,15 м. В каждом из светильников установлено 2 люминесцентные лампы типа ЛТБ-36. План помещения и размещения светильников с люминесцентными лампами представлен на рисунке 18.

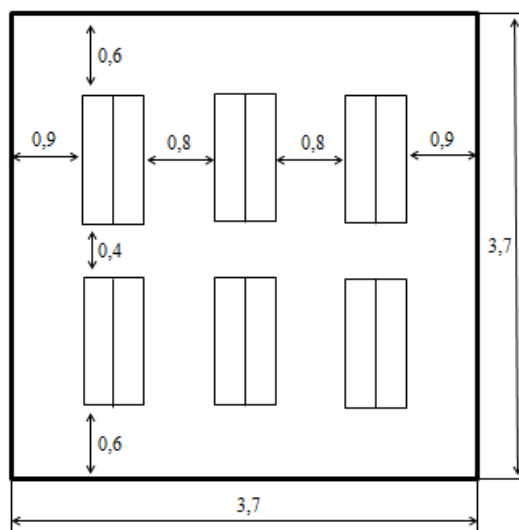


Рисунок 18 – План расположения светильников в рабочем помещении

Произведем расчет искусственного освещения помещения:

- размеры помещения: $A = 3,7$ м; $B = 3,7$ м; $H = 2,5$ м; $S = 13,7$ м²;
- количество рядов светильников $N = 2$;
- высота рабочей поверхности $h_p = 0,75$ м;
- коэффициент отражения стен $\rho_{cm} = 50$ %;

- коэффициент отражения потолка $\rho_n = 70 \%$;
- коэффициент запаса для помещения с малым выделением пыли $K_s=1,5$;
- коэффициент неравномерности освещения $Z = 1,1$;
- лампы фирмы Osram, мощностью 36 Вт;
- световой поток одной лампы $\Phi_l = 2850$ лм.

Рассчитываем индекс помещения i по формуле 26:

$$i = \frac{S}{H \times (A+B)} = \frac{13,7}{2,5 \times (3,7+3,7)} = 0,74 \quad (26)$$

Коэффициент использования светового потока $\eta = 38 \%$.

Требуемый световой поток находим по формуле 27:

$$\phi = \frac{E_n \cdot S \cdot K_s \cdot Z \cdot 100 \%}{N \cdot \eta} = \frac{400 \times 13,7 \times 1,5 \times 1,1 \times 100 \%}{2 \times 38 \%} = 11897,4 \text{ лм.} \quad (27)$$

В каждом светильнике 2 лампы со световым потоком 2850 лм.

Необходимое число светильников в ряду: $\frac{11897,4 \text{ лм}}{2 \times 2850 \text{ лм}} \approx 2$.

Рассчитаем фактическое освещение в помещении.

Число светильников в ряду 3 (число ламп 2):

$$\Phi = 2850 \text{ лм} \cdot 3 \cdot 2 = 17100 \text{ лм} \quad (28)$$

Фактическое освещение в помещении $\Phi = 17100$ лм для одного ряда светильников, т.е. для трех светильников с двумя лампами. Рассчитываем фактическое значение освещения в помещении по формуле 29:

$$E_{\text{фактич}} = \frac{\phi \cdot N \cdot \eta}{S \cdot K_s \cdot Z \cdot 100 \%} = \frac{11897,4 \times 2 \times 38 \%}{13,7 \times 1,5 \times 1,1 \times 100 \%} = 400 \text{ лк.} \quad (29)$$

Для зрительной работы высокой точности при системе комбинированного освещения минимальный норматив освещенности равен 400 лк. В рассматриваемом рабочем помещении 400 лк приходится на искусственное освещение без учета естественного освещения. Таким образом, освещение в помещении соответствует нормам освещённости на рабочих местах производственных помещений по СНиП 23-05 [41].

5.1.2.3 Микроклимат рабочей зоны

Одним из необходимых условий нормальной работоспособности человека является обеспечение в рабочих помещениях нормальных метеорологических условий, оказывающих существенное влияние на тепловое самочувствие человека.

Согласно ГОСТ 12.1.005 под микроклиматом производственных помещений понимается климат внутренней среды данных помещений, который определяется совместно действующими показателями на организм человека: температурой, относительной влажностью и скоростью движения воздуха, а также температурой окружающих поверхностей [42].

При производственных процессах практически всегда выделяется тепло. Источниками тепла могут быть различные электрооборудование (ПК, измерительные приборы). В теплое время года добавляется тепло солнечного излучения. В соответствии с таблицей «оптимальные величины показателей микроклимата на рабочих местах производственных помещений», которая приведена в СанПиН 2.2.4.548 работу в химической лаборатории можно отнести к категории 1б [43]. Данный тип работ производится сидя, стоя или связан с ходьбой, но не требует систематического физического напряжения или поднятия и переноса тяжести.

СанПиН 2.2.4.548 устанавливает оптимальные и допустимые уровни показателей микроклимата, которым должны соответствовать уровни показателей, на рабочем месте представленные в таблицах 41 и 42.

Таблица 41 – Оптимальные величины показателей микроклимата

Период года	Температура воздуха, °С	Относительная влажность воздуха, %	Скорость движения воздуха, м/с
Холодный	22 – 24	40 – 60	0,1
Теплый	23 – 25		0,1

Для создания комфортных условий в рабочих помещениях могут быть использованы как организационные методы (рациональная организация проведения работ в зависимости от времени года и суток, чередование труда и отдыха), так и технические средства (приточная и вытяжная вентиляции, кондиционирование воздуха, современная отопительная система).

Таблица 42 – Допустимые величины показателей микроклимата на рабочих местах производственных помещений

Период года	Температура воздуха, °С		Относит. влажность воздуха, %	Скорость движения воздуха, м/с	
	Диапазон ниже оптимальных величин	Диапазон выше оптимальных величин		Ниже оптимальных величин не более	Выше оптимальных величин не более
Холодный	20,0 – 21,9	24,1 – 25,0	15 – 75	0,1	0,1
Теплый	21,0 – 22,9	25,1 – 28,0	15 – 75	0,1	0,2

5.1.2.4 Электробезопасность

Современное производство характеризуется широким применением различных электроустановок. В соответствии с ГОСТ 12.1.009 под электробезопасностью понимается система организационных, технических мероприятий и средств, обеспечивающих защиту людей от вредного и опасного воздействия электрического тока и электрической дуги и статического электричества [44].

Согласно ПУЭ (7-е изд.) рабочее помещение относится к категории помещений без повышенной опасности. Помещение сухое, с нетокопроводящим полом и без токопроводящей пыли. В соответствии с ГОСТ Р 12.1.019 в рабочем кабинете электроустановки и их части выполнены таким образом, чтобы работающие не подвергались опасным и вредным воздействиям электрического тока и соответствуют требованиям электробезопасности [45].

Предельно допустимые уровни напряжений прикосновения и токов отражены в ГОСТ 12.1.038 [46]. При нормальном режиме электроустановки (неаварийном) напряжение прикосновения и токи, проходящие через тело человека не должны превышать значений представленных в таблице 43.

Таблица 43 – Предельно допустимые значения напряжений прикосновения и токов

Род тока	U, В	I, мА
	не более	
Переменный, 50 Гц	2,0	0,3

Основными причинами поражения человека электрическим током могут быть следующие:

- непосредственное прикосновение к токоведущим частям, оказавшимся под напряжением;
- соприкосновение с конструктивными частями, оказавшимися под напряжением.

С целью предотвращения поражений электрическим током каждый сотрудник должен проходить инструктаж по охране труда на рабочем месте.

Для обеспечения защиты от поражения электрическим током при прикосновении к металлическим нетокведущим частям, которые могут оказаться под напряжением в результате повреждения изоляции, необходимо:

1. применять:
 - защитное заземление; зануление и отключение [47];
 - защитное экранирование;
 - систему защитных проводов;
2. проводить контроль состояния изоляции электрических установок;
3. приводить организационные мероприятия по обеспечению электробезопасности (обучение и инструктаж сотрудников) [48].

5.1.2.5 Опасность содержания токсических и раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны

Действие вредных химических веществ на организм человека обусловлено их физико-химическими свойствами. Согласно ГОСТ 12.1.007 под вредным веществом понимается такое вещество, которое при контакте с организмом человека в случае нарушения требований безопасности может вызывать производственные травмы, профессиональные заболевания или отклонения в состоянии здоровья [49].

Вредные газы и пары могут вызывать профессиональные отравления, которые подразделяются на острые и хронические. Острые отравления возникают за короткое время под воздействием ядов большой дозы, хронические – в результате систематического отравления ядами малой дозы за длительное время. Предел допустимых концентраций вредных веществ в воздухе рабочей зоны приведен в ГН 2.2.5.686.

Для обеспечения безопасности труда при контакте с вредными веществами обязательно должны применяться средств индивидуальной защиты (маски, респираторы), технические средства (приточная и вытяжная вентиляции), а также необходимо проводить инструктаж обслуживающего персонала.

5.2 Экологическая безопасность

Под экологической безопасностью следует понимать состояние защищенности окружающей среды и здоровья человека от возможного негативного влияния производственной деятельности. Для охраны окружающей среды необходимо проводить комплекс мероприятий, предназначенный для ограничения отрицательного влияния человеческой деятельности на следующие природные зоны:

– селитебная зона;

- гидросфера;
- атмосфера;
- литосфера.

5.2.1 Анализ влияния процесса исследования на окружающую среду

Процесс разработки методики определения органических соединений вольтамперометрическим методом осуществляется в химической лаборатории. Наиболее типичным воздействием химической лаборатории является воздействие на гидросферу, в виде сбросов отходов исследования в канализацию и на атмосферу, в виде выбросов химических веществ. Далее будут представлены меры по защите окружающей среды от такого рода воздействий.

5.2.2 Обоснование мероприятий по защите окружающей среды

При работе химической лаборатории образуются специфические отходы химических веществ, преимущественно в виде различных сливов и остатки химических реактивов, не подлежащие дальнейшему использованию. С целью снижения воздействия химических отходов на гидросферу необходимо проводить сбор отходов с учетом особенностей последующей утилизации. Запрещается сливать химические вещества в канализационную сеть. Отработанные кислоты и щелочи следует собирать отдельно в специальную посуду, которая закрывается герметично. Все пролитые или просыпанные вещества необходимо тотчас убрать. Обтирочные материалы после уборки должны быть обработаны следующим образом: если была пролита кислота, то следует провести нейтрализацию щелочным раствором и многократно промыть водой, если была пролита щелочь – нейтрализовать кислым раствором и тщательное промыть водой.

К помещениям химических лабораторий предъявляются жесткие требования по организации вытяжной системы. Это связано с использованием в них легколетучих и ядовитых веществ. Вентиляция химических лабораторий должна обеспечивать удаление побочных продуктов исследований непосредственно с рабочего места, вследствие чего возможны выбросы в атмосферу. С целью устранения высокой концентрации вредных и опасных веществ в атмосфере, необходимо организовывать такой вывод воздуха из лаборатории за пределы здания, чтобы происходило рассеивание этих веществ в открытом воздухе, и исключалась вероятность попадания этих газов через воздухозаборные отверстия снова в здание. Поэтому требуется обеспечение высокой скорости выпуска воздуха, т.к. это служит гарантией того, что выбросы не попадут в воздухозаборные отверстия и открытые окна.

5.3 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

5.3.1 Анализ вероятных ЧС, которые могут возникнуть в лаборатории при проведении исследований

На таком объекте как химическая лаборатория могут возникнуть такие чрезвычайные ситуации (ЧС) как:

- техногенные (пожары, взрывы);
- экологические (аварии с выбросом химически и биологически опасных веществ);
- природные (землетрясение, наводнение).

Рассмотрим наиболее типичную ЧС, такую как пожар в лаборатории.

Здание, в котором находится лаборатория по пожарной опасности строительных конструкций относится к категории Б, поскольку здесь присутствуют горючие (легковоспламеняющиеся жидкости, книги, документы, мебель и т.д.) и трудносгораемые вещества (сейфы, различное оборудование и т.д.), которые при взаимодействии с огнем могут гореть без взрыва [50].

По конструктивным характеристикам здание можно отнести к помещениям с несущими и ограждающими конструкциями из естественных или искусственных каменных материалов, бетона или железобетона, где для перекрытий опускается использование деревянных конструкций, защищенных штукатуркой или трудногорючими листовыми, а также плитными материалами. Следовательно, здание имеет третью (III) степень огнестойкости.

Помещение лаборатории по функциональной пожарной опасности относится к классу Ф 4.2 – высшие учебные заведения, учреждения повышения квалификации [51].

Основные причины возникновения пожара:

- нарушение порядка хранения пожароопасных материалов;
- нарушение правил эксплуатации электрического оборудования, эксплуатация его в неисправном состоянии;
- применение неисправных осветительных приборов, электропроводки и устройств, дающих искрение, замыкание и т. п.;
- перегрузка электрических сетей;
- курение в неустановленных местах;
- нарушение правил пожарной безопасности при проведении огневых работ и др.

5.3.2 Обоснование мероприятий по предотвращению ЧС и разработка порядка действия в случае возникновения ЧС

Для профилактики пожара необходимо проводить комплекс организационных и технических мероприятий, направленных на обеспечение безопасности людей, на предотвращении пожара, ограничение его распространения, а также создание условий для успешного тушения пожара.

Одно из условий обеспечения пожаробезопасности – ликвидация возможных источников воспламенения. В лаборатории источниками

воспламенения могут быть неисправное электрооборудование, неисправности в электропроводке, электрических розетках и выключателях.

Для исключения возникновения пожара по этим причинам необходимо вовремя выявлять и устранять неисправности, проводить плановый осмотр и своевременно устранять все неисправности и неисправные электроприборы и не использовать неисправные электроприборы.

Обогревание помещения открытыми электронагревательными приборами могут привести к пожару, т.к. в помещении находятся химические реактивы, бумажные документы и справочная литература, все это является легковоспламеняющимися предметами.

В случае возникновения пожара необходимо отключить электропитание, вызвать по телефону пожарную команду, эвакуировать людей из помещения согласно плану эвакуации, представленному на рисунке 19, и приступить к ликвидации пожара огнетушителями.



Рисунок 19 – План эвакуации из помещения Сибирского физико-технического института, пл. Ново-Соборная, 1 – подвал

При наличии небольшого очага пламени можно воспользоваться подручными средствами с целью прекращения доступа воздуха к объекту возгорания. В химической лаборатории средствами тушения являются:

порошковые огнетушители (ОП–4 (з) – АВСЕ, масса заряда 4 кг, по одному баллону в каждом кабинете), песок, вода и асбестовое одеяло.

В целях профилактики пожара предлагается не использовать открытые обогревательные приборы в помещении лаборатории;

Для уменьшения вероятности возникновения пожара, вследствие короткого замыкания, необходимо, чтобы электропроводка была скрытой.

Несоблюдение мер пожарной безопасности и курение в помещении также может привести к пожару. Поэтому курения в помещении лаборатории категорически запрещено.

В целях предотвращения пожара также необходимо проводить с инженерами, работающими в лаборатории, противопожарный инструктаж.

5.4 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

5.4.1 Специальные правовые нормы трудового законодательства

В соответствии с Трудовым Кодексом РФ и правовыми нормами обеспечения безопасности предусмотрена рациональная организация труда в течение смены, которая предусматривает:

- длительность рабочей смены не более 8 часов;
- установление двух регламентируемых перерывов (не менее 20 минут после 1-2 часов работы, не менее 30 минут после 2 часов работы);
- обеденный перерыв не менее 40 минут.

При приеме на работу обязательный медицинский осмотр и периодический во время работы. Каждый сотрудник должен пройти инструктаж по технике безопасности перед приемом на работу и в дальнейшем, должен быть пройден инструктаж по электробезопасности и охране труда.

Оплата труда, социальные пособия, дополнительные выплаты устанавливаются в соответствии со степенью вредности и опасности выполняемых обязанностей.

5.4.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны

С точки зрения эргономики оптимальное рабочее место обеспечивает выполнение трудовых операций в пределах моторного поля – пространства, в котором работник совершает действия, необходимые для управления оборудованием.

Для каждого работника научно-исследовательской химической лаборатории должно быть обеспечено удобное рабочее место, не стесняющее его действий во время выполняемой работы. Основной объем работ по разработке методики определения органических соединений вольтамперометрическим методом выполняется сидя, поэтому рабочее место должно отвечать требованиям ГОСТ 12.2.032 [52]. Конструкцией рабочего места должно быть обеспечено выполнение трудовых операций в пределах зоны досягаемости моторного поля. Зоны досягаемости рук в горизонтальной плоскости представлены на рисунке 20.

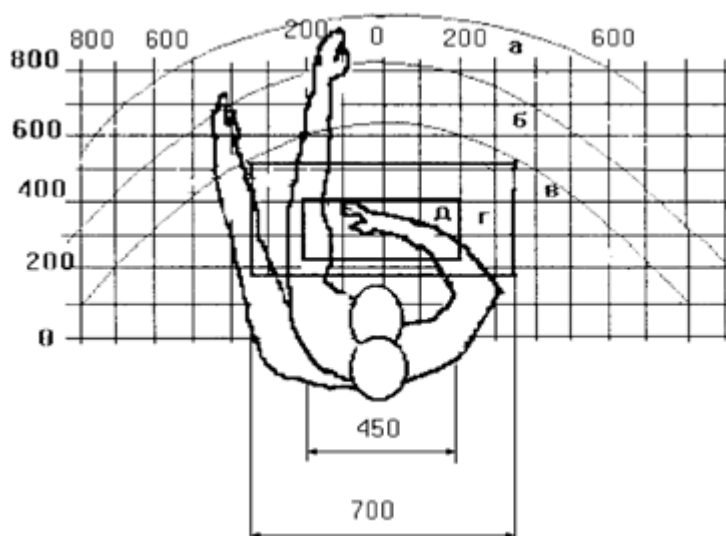


Рисунок 20 – Зоны досягаемости рук в горизонтальной плоскости

а – зона максимальной досягаемости (часть моторного поля рабочего места, ограниченного дугами, описываемыми максимально вытянутыми руками при движении их в плечевом суставе);

б – зона досягаемости пальцев при вытянутой руке;

в – зона легкой досягаемости ладони;

г – оптимальное пространство для грубой ручной работы;

д – оптимальное пространство для тонкой ручной работы.

Рабочее место должно содержаться в чистоте. Уборка рабочих мест, должна производиться после окончания работы, но ни в коем случае не перед или вовремя нее.

Создание благоприятных условий труда и правильное эстетическое оформление рабочих мест на производстве имеет большое значение, как для облегчения труда, так и для повышения его привлекательности, положительно влияющей на производительность труда.

5.5 Выводы по разделу «Социальная ответственность»

При рассмотрении безопасности и гигиены труда при разработке методики определения органических и биологически активных соединений вольтамперометрическим методом, были выявлены вредные факторы рабочей зоны такие как шум и вибрация, освещенность, микроклимат, содержания токсических и раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны, а также опасные – поражение электрическим током, пожаро- и взрывоопасность. Проведен их анализ по воздействию фактора на организм человека, по допустимым нормам и предлагаемым средствам защиты. Рассмотрена типичная чрезвычайная ситуация, поведение в ней и представлены превентивные меры по ее предупреждению. Проведено знакомство и отбор законодательных и нормативных документов по данной теме.

Заключение

В результате выполнения выпускной квалификационной работы были получены следующие результаты:

1. Получены планарные графитовые электроды, модифицированные наночастицами меди из спиртовой дисперсии, приготовленной методом импульсной лазерной абляции.

2. Установлен аналитический сигнал и получены градуировочные функции для электропревращений аскорбиновой кислоты ($R^2=0,998$), никотиновой кислоты ($R^2=0,995$) и глюкозы ($R^2=0,991$) на модифицированных электродах.

3. Получены результаты количественного определения изучаемых аналитов с использованием модифицированных электродов в водных растворах.

4. Оценены показатели качества методик количественного определения АК, НК и глюкозы в водных растворах с использованием модифицированных электродов.

5. Установлена возможность определения АК и НК, НК и глюкозы, АК и глюкозы при совместном присутствии с использованием модифицированных электродов в водных растворах.

Исследуемые методики количественного определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы в водных растворах с использованием планарных графитовых электродов, модифицированных наночастицами меди, удовлетворяют всем установленным показателям точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Полученные результаты могут в дальнейшем использоваться для создания методик определения аскорбиновой кислоты, никотиновой кислоты и глюкозы в различных объектах (биологические жидкости, фармпрепараты и т.п.).

Список научных публикаций

1. **Рыжинская К. А.** , Лапин И. Н. Определение содержания золота в водных дисперсиях золотых наночастиц с использованием вольтамперометрии / Сборник научных трудов XIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук» – Томск: Изд-во ТПУ, 2016. – Т. 2: Химия. – С. 395-397.
2. Шабалина А.В., **Рыжинская К.А.** Способ модифицирования планарного графитового электрода для определения дофамина. Ноу-хау, ТГУ, 2016 г.
3. Shabalina A.V., **Belova K.A.** Pure Metal Nanoparticles for Selective Electrochemical Sensor of Organic Substances // Key Engineering Materials. – 2016.–V. 683.– P. 288–294.
4. Шабалина А.В., **Рыжинская К.А.**, Лапин И.Н., Светличный В.А. Способ определения аскорбиновой кислоты и дофамина в воде при совместном присутствии с использованием модифицированных электродов // Патент на изобретение № 2610220. Приоритет от 18.11.2015., Опубликовано: 08.02.2017. Бюл. № 4.
5. Шабалина А.В., **Рыжинская К.А.**, Лапин И.Н., Светличный В.А. Способ определения наночастиц Au, Ni и Cu в жидких объектах // Патент на изобретение № 2612845. Приоритет от 02.11.2015. Опубликовано: 13.03.2017. Бюл. № 8.

Список литературы

1. Шайдарова Л.Г. Модифицированные электроды с каталитическими свойствами в органической вольтамперометрии. дис. на соиск. учен. степ. докт. хим. Наук (02.00.02) / Л.Г. Шайдарова. – Казань, 2009. – 350 с.
2. Будников Г.К. Вольтамперометрия с модифицированными и ультрамикроэлектродами / Г.К. Будников, В.Н. Майстренко, Ю.И. Муринов. М.: Наука, 1994. – 240 с.
3. Дж. Плэмбек Электрохимические методы анализа. Основы теории и применение. М.: Мир, 1985 – 496 с.
4. Электроды в электрохимических методах контроля: учебно-методическое пособие по курсу «Современные проблемы аналитического контроля и мониторинга» / Г.Б. Слепченко, Э.А. Захарова, Ю.А. Акенеев. – Томск.: Изд-во ТПУ, 2008. – 35 с.
5. Будников Г.К. Становление и развитие аналитической химии в Казани / Г. К. Будников, В. Ф. Торопова, Л. А. Анисимова, О. Ю. Тимофеева. // Журн. аналит. хим. – 1992. – Т. 47. – № 1. – С. 192-195.
6. Вольтамперометрические методы анализа. Методические указания к выполнению лабораторных работ по курсу «Аналитическая химия» / Г.Н. Шрайбман, Н.В. Серебренникова, П.Д. Халфина, Н.В. Иванова, Г.А. Шлепанова. – Кемерово: КемГУ, 2004. – 31 с.
7. Р 50.2.028–2003. ГСИ. Алгоритмы построения градуировочных характеристик средств измерений состава веществ и материалов и оценивание их погрешностей (неопределенностей). Оценивание погрешности (неопределенности) линейных градуировочных характеристик при использовании метода наименьших квадратов. – М.: Госстандарт России, 2003. – 11 с.
8. РМГ 61–2010. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. – М.: Стандартиформ, 2013. – 58 с.

9. ОФС 42-0113-09 Валидация аналитических методик.
10. Будников Г.К. Биохимические сенсоры как этап в эволюции электроанализа: методологический аспект / Г. К. Будников, Э. П. Медянцева // Журн. аналит. хим., 1992. – Т. 47. – № 1. – С. 74-79.
11. Bard A.J. Electrochemical methods. Fundamentals and application / A. J. Bard, L.R. Faulkner. – New York, Chichester: Wiley, 2001. – 856 p.
12. Эггинс Б. Химические и биологические сенсоры / Б. Эггинс. – М.: Техносфера, 2005. – 336 с.
13. Андреев В.Н. Влияние фталевой и салициловой кислот на синтез и свойства пленок полианилина / В. Н. Андреев // Электрохимия, 2000. – Т. 36, № 3. – С. 379–382.
14. Pruneanu S. Electrochemical quartz crystal microbalance study of the influence of the solution composition on the behaviour of poly(aniline) electrode / S. Pruneanu, E. Csahok, G. Inzelt // Electrochim. Acta, 1998. – V. 43, № 16–17. – P. 2305–2323.
15. Мелихов И.В. Тенденции развития нанохимии / И.В. Мелихов // Рос. хим. журн, 2002. –Т. 46, №5. –С. 7–14.
16. Третьяков Ю.Д. Синтез функциональных нанокомпозитов на основе твердофазных нанореакторов / Ю.Д. Третьяков, А.В. Лукашин, А.А. Елисеев // Успехи химии, 2004. – Т. 73, № 9. – С. 974–998.
17. Светличный В.А. Синтез наночастиц металлов при лазерной абляции твердых тел в жидкостях наносекундным излучением 2-й гармоники Nd-YAG лазера / В.А. Светличный, Т.И. Изаак, О.В. Бабкина, А.В. Шабалина // Известия высших учебных заведений: Физика. – 2009. – № 12. – С. 110115.
18. Шабалина А.В., Рыжинская К.А., Лапин И.Н., Светличный В.А. Способ определения аскорбиновой кислоты и дофамина в воде при совместном присутствии с использованием модифицированных электродов // Патент на изобретение № 2610220. Приоритет от 18.11.2015., Опубликовано: 08.02.2017. Бюл. № 4.
19. Полинг Л. Витамин С и здоровье / Л. Полинг. – М.: Наука, 1975. – 80 с.

20. Государственная фармакопея СССР. Изд-во XI, вып. 2. – М.: Медицина, 1989. – 397с.
21. Bonuccelli G. NADH autofluorescence, a new metabolic biomarker for cancer stem cells: Identification of Vitamin C and CAPE as natural products targeting “stemness” / G. Bonuccelli, E. M. De Francesco, R. de Boer, H. B. Tanowitz, M. P. Lisanti // *Oncotarget*, 2017. – V.8, №13. – P. 20667–20678.
22. Зубцова Я. Бьюти-мифы: Вся правда о ботоксе, стволовых клетках, органической косметике и многом другом / Я. Зубцова, Т. Орасмяэ-Медер. – М.: Альпина Паблишер, 2015. – 296 с.
23. Кушманова О. Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / О. Д. Кушманова, Г. М. Ивченко. – М.: Медицина, 1983. – 272 с.
24. Capella-Peiro E. Flow injection spectrophotometric determination of nicotinic acid in micellar medium of Ncetylpyridinium chloride / E. Capella-Peiró, L. Monferrer-Pons, C. García-Alvarez-Coque, J. Esteve-Romero // *Anal. Chim. Acta*, 2001. – V. 427. – P. 93–100.
25. Shrivas K. Quantitative determination of nicotinic acid in micro liter volume of urine sample by drop-to-drop solvent microextraction coupled to matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry / K. Shrivas, D.K. Patel // *Spectrochimica Acta – Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011. – V.78. P. 253–257.
26. Mawatari K. I. Determination of Nicotinic Acid and Nicotinamide in Human Serum by High-Performance Liquid Chromatography with Postcolumn Ultraviolet-Irradiation and Fluorescence Detection / K.I. Mawatari, F. Iinuma, M. Watanabe // *Analytical Sciences*, 1991. – V.7. – P. 733–736.
27. Sangshetti J. N. Development and validation of RP-HPLC method for determination of Atorvastatin calcium and Nicotinic acid in combined tablet dosage form / J. N. Sangshetti, M. Aqeel, Z. Zaheer, R. Z. Ahmed, M. I. Gonjari // *Journal of Saudi Chemical Society*, 2016. – V.20. – P. 328–333.
28. Sacconi G. Determination of niacin in fresh and dry cured pork products by ion chromatography: Experimental design approach for the optimisation of nicotinic

- acid separation / G. Saccani, E. Tanzi, S. Mallozzi, S. Cavalli // Food Chemistry, 2005. – V.92. – P. 373–379.
29. Mu G. Use of Experimental Design and Artificial Neural Network in Optimization of Capillary Electrophoresis for the Determination of Nicotinic Acid and Nicotinamide in Food Compared with High-Performance Liquid Chromatography / G. Mu, F. Luan, H. Liu, Y. Gao // Food Analytical Methods, 2013. – V.6. – P. 191–200.
30. Wang S.X. Calorimetric study and thermal analysis of crystalline nicotinic acid / S.X. Wang, Z.C. Tan, M.H. Wang // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2004. – V.76, № 1. – P. 335–342.
31. Стачинский А.Н. Титриметрические методы определения водорастворимых витаминов в таблетках и инъекционных растворах / А.Н. Стачинский, Т.Ю. Арчинова // Фармация. 1988. – Т.37, №3. – С. 29–31.
32. Premlatha S. Electrodeposition of a 3D hierarchical porous flower-like cobalt-MWCNT nanocomposite electrode for non-enzymatic glucose sensing / S. Premlatha, P. Sivasakthi, G.N.K Ramesh Babu, RSC Advances, 2015. – V.5. – P. 74374–74380.
33. Wang J. Electrochemical glucose biosensors / J. Wang // Chemical Reviews, 2008. – V.108. – P. 814–825.
34. Chen X. Advances in enzyme-free electrochemical sensors for hydrogen peroxide, glucose and uric acid / Xiaomei Chen, Genghuang Wu, Zhixiong Cai // Microchimica Acta, 2014. – V.181. – P. 689–705.
35. Ryu J. Intense pulsed light induced platinum-gold alloy formation on carbon nanotubes for non-enzymatic glucose detection / J. Ryu, K. Kim, H.S. Kim // Biosensors and Bioelectronics, 2010. – V.26. – P. 602–607.
36. Cao X. A novel non-enzymatic glucose sensor modified with Fe₂O₃ nanowire arrays / X. Cao, N. Wang // Analyst, 2011. – V.136. – P. 4241–4246.
37. ICCSR26000–2011. Социальная ответственность организаций. Требования. – Введ. 2011–03–03. – М.: 2011. – 32 с.

- 38.ГОСТ 12.0.003 – 74 ССБТ. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация. – Введ. 1976–01–01. – М.: Изд-во стандартов, 1974. – 4 с.
- 39.СН 2.2.4/2.1.8.562–96. Шум на рабочих местах, в помещениях жилых, общественных зданий и на территории жилой застройки. – Введ. 1996–01–31. – М.: Госкомсанэпиднадзор России, 1996. – 8 с.
- 40.СанПиН 2.2.2/2.4.1340–03. Гигиенические требования к персональным электронно-вычислительным машинам и организации работы. – Введ. 2003–06–30. – М.: Минздрав России, 2003. – 27 с.
- 41.СП 52.13330.2011. Естественное и искусственное освещение. – Введ. 2011–05–20. – М.: 2011. – 70 с.
- 42.ГОСТ 12.1.005–88. ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны. – Взамен ГОСТ 12.1.005–76; – введ. 1989–01–01. – М.: Изд-во стандартов, 1988. – 48 с.
- 43.СанПиН 2.2.4.548–96. Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений. Санитарные правила и нормы. – Введ. 1996–10–01. – М.: Минздрав России, 1996. – 11 с.
- 44.ГОСТ 12.1.009–2009 ССБТ. Электробезопасность. Термины и определения. – Введ. 2009–12–10. – М.: Стандартиформ, 2010. –12 с.
- 45.ГОСТ Р 12.1.019–2009 ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты. – Введ. 2009–12–10.– М.: Стандартиформ, 2010. – 28 с.
- 46.ГОСТ 12.1.038–82 ССБТ. Электробезопасность. Предельно допустимые значения напряжений прикосновения и токов. – Введ. 1983–06–30 – М.: Изд-во стандартов, 1982. – 15 с.
- 47.ГОСТ Р 50571.3–2009. Требования для обеспечения безопасности. Защита от поражения электрическим током. – Введ. 2009–12–10. – М.: Стандартиформ, 2012. – 19 с.
- 48.ГОСТ 12.0.004–2015 ССБТ. Организация обучения безопасности труда. Общие положения. – Введ. 2015–12–10. – М.:Стандартиформ, 2016. – 40 с.

- 49.ГОСТ 12.1.007–76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – Введ. 1977–01–01. – М.: Изд-во стандартов, 1976. – 6 с.
- 50.НПБ 105-03. Определение категорий помещений, зданий и наружных установок по взрывопожарной и пожарной опасности. – Введ. 2003–08–01. – М.:2003. – 30 с.
- 51.Федеральный закон от 22 июня 2008 г. №123-ФЗ. Технический регламент о требованиях пожарной безопасности. – М.: 2008. – 100 с.
- 52.ГОСТ 12.2.032–78 ССБТ. Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования. – Введ. 1979–01–01. – М.: Изд-во стандартов, 1986. – 9 с.

Приложение А
(обязательное)

Раздел 1
VOLTAMMETRY

Студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
8ГМ51	Рыжинская К.А.		

Консультант кафедры СУМ:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Емельянова Е.Ю.			

Консультант – лингвист кафедры ИЯИК:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Кузнецова И.Н.			

1 Voltammetry

Electrochemical methods of research and analysis are effectively applied in various fields of science and technology. They are characterized by high sensitivity, speed, versatility, selectivity, moreover they often allow you to identify several components of the mixture at the same time. Electrochemical methods make it possible to measure the concentration of various substances with a sufficiently high accuracy (from 0.05 to 10%) and reproducibility in a wide range. With their help, it is possible to determine organic and inorganic substances in both aqueous and non-aqueous solutions. At present, electrochemical methods have become standard methods for controlling the content of various substances (biologically significant, toxic, etc.) in environmental objects, drugs, food and biological fluids [1]. High accuracy, selectivity and comparative simplicity of voltammetric methods make them one of the most convenient methods of analysis, and sometimes the only possible ones.

1.1. Essence of the method

Voltammetry is a method of research and analysis based on the study of dependence of the electric current intensity of polarization in an electrolytic cell on the potential of the working electrode (WE), immersed in the analyzed solution, on which the electrochemically active (electroactive) substance under test reacts. On the surface of the indicating electrode one can carry out operations of separation, concentration and determination of the substance [2].

In addition to the indicating electrode, an electrochemical cell is introduced with a reference electrode (RE), which must keep its potential constant and do not react to the analyte, and a counter electrode (CE) with a much larger surface so that when the current passes its potential is practically unchanged (non-polarizable electrode). It is possible to use a 2-electrode system without a counter electrode. Electrodes are immersed in an indifferent electrolyte of aqueous solutions of salts,

acids or bases in which the current is carried by ions. Installations, in which the main elements are an electrochemical cell, a polarizing voltage source (PVS), a potentiostat (P), and a current meter (CM) are used for the voltammetric measurement. Figure 1 shows the setup for voltammetric analysis with a 3-electrode system.

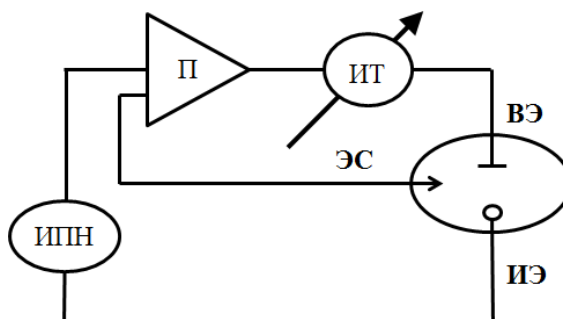


Figure 1. Installation diagram with a three-electrode cell

The voltage applied to the electrodes is the sum of the potentials:

$$E = E_{we} - E_{re} + IR, \quad (1)$$

where E_{we} – is the potential of the work electrode, V;

E_{re} – is the potential of the reference electrode, V;

IR – is the ohmic potential drop in the solution when current flows, V.

The main method of studying electrochemical processes in this work was the method of cyclic voltammetry. Cyclic voltammetry is a very convenient way of detecting electroactive substances, their number in the test solution, and also suitable for establishing the reversibility of the electrode process. This method is applicable for studying the kinetics of electrode processes, determining the stability of the present substances and quantitative analysis.

The success of voltammetric analysis largely depends on the correct choice of the indicating electrode. That is why a great attention is given to the electrode material, the methods of regeneration and modification of its surface, determining the working range of the potentials, the magnitude of the signal-response and the possibility of achieving the specified metrological characteristics. Static and rotating electrodes made of metal (silver, gold, platinum), dropping electrodes (from mercury, amalgams, gallium), as well as electrodes made of carbon materials (graphite, glassy carbon, carbon paste, etc.) are used as indicating electrodes. For a long time,

electrodes made of precious metals, in particular those made of platinum, have been widely spread, but now they are gradually replaced by carbon electrodes, which have a much wider working range of potentials and do not interact with the settleable substance [3]. A modern variant of electrochemical sensors are planar electrodes made of carbon paste by screen printing (carbon screen-printed electrodes, CSPE).

1.2 Analytical signal

An analytical technique is a method of conducting an analysis, that is, a detailed account of all the operations necessary to perform a test. It includes a description of the preparation of test samples, standards and reagents; description of the equipment used, indicating the parameters; conditions for obtaining calibration curves; use of calculation formulas, etc.

The method of voltammetric analysis is based on the interpretation of voltammograms obtained in an electrochemical cell with a polarizing indicating electrode. Voltammogram is the dependence of the current flowing through the cell from the voltage applied to the electrodes (E-I). An example of the obtained voltammogram with a linear increase of the potential is shown in Figure 2.

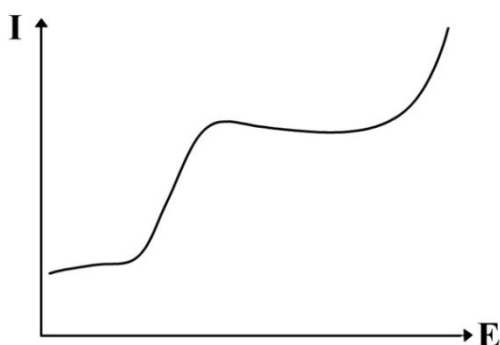


Figure 2. Example of the received current-voltage dependence for linear potential sweep

The analytical signal (S_i) is the result of an electrochemical reaction. The measured parameters, the intensity of which is functionally related to the concentration (c_i) of the analyte in the voltammetric method of analysis, are the current strength (I , A) and the amount of electricity (Q , C).

There is a number of requirements to the analytical signal:

- the functional dependence of $S_i = f(c_i)$ should not have an extremum, because one concentration quantity must correspond to one analytical signal S_i and vice versa;
- *sensitivity*: the ratio of the signal change to a change in the concentration of $\Delta S_i / \Delta c_i$ must be maximum;
- *selectivity*: if there are other components in the test solution, in addition to the analyte component (i), it is necessary that at $c_i = \text{const}$ the value of the S_i signal does not change when the concentration of other components changes;
- *noise immunity of the analysis*: when the external factors (F), for example, pressure, temperature, electric and magnetic field, influence the analyzed electrochemical cell, the change in the value of the analytical signal $\Delta S_i / F$ must be minimal.

At static electrodes, the analytical signal is the anodic or cathodic current of the electro-transformation of the analyte, recorded on the voltammogram as a peak (or several peaks for various substances). Analytical signal should appear only in the presence of an analyte (except electrocatalysis). To determine whether the peak belongs to the analyte, a voltammogram of the background electrolyte is always obtained in its absence.

The peak on the voltammogram is characterized by three parameters: position (potential value, V), peak height (maximum current value, A) and the area under the peak (amount of electricity, C). The potential of the peak appearance characterizes the nature of the substance (it serves to identify this substance from the reference data, since each substance has its redox potential), peak height is the number of electrons that has passed through the electrode / electrolyte interface during the time of receiving the signal, and the area under the peak - the amount of electricity, that is, it is an integral quantity characterizing the number of electrons that has passed through a bounded surface (electrode / electrolyte interface) in a unite time.

To be used in the quantitative analysis the area under the peak and peak height should proportionally depend on the concentration of the analyte. In this case it will be possible to calculate the analyte content in the sample from the experimentally determined value.

1.2.1 Peak height determination methods

Measurement of the peak height can be carried out by any of the methods shown in Figure 3. To avoid rough measurement errors in each series of experiments, the measurement method must be the same.

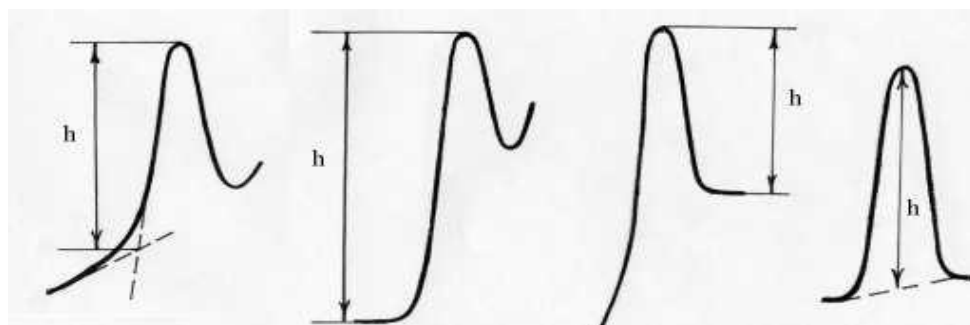


Figure 3. Measurement of peak current height on the voltammogram

The accuracy of the methods for measuring the peak height shown in Figure 3 is very close, and the choice of the particular method depends on the shape of the current-voltage curve.

Since the peaks of various substances have a wide variety of shapes (most often they are asymmetrical to the midline passing through the highest point of the peak), the proportionality is basically strictly satisfied between the amount of substance in the sample in the electrochemical cell and the peak area. That is, more accurate results in the case of wide and irregular shapes of peaks gives a measurement of the area under the peak.

1.2.2 Methods of determining the area under the peak

The area under the peak is calculated using the software that controls the potentiostat, as shown in Figure 4, or using any other suitable software package (Excel, OriginPro, Advanced Grapher).

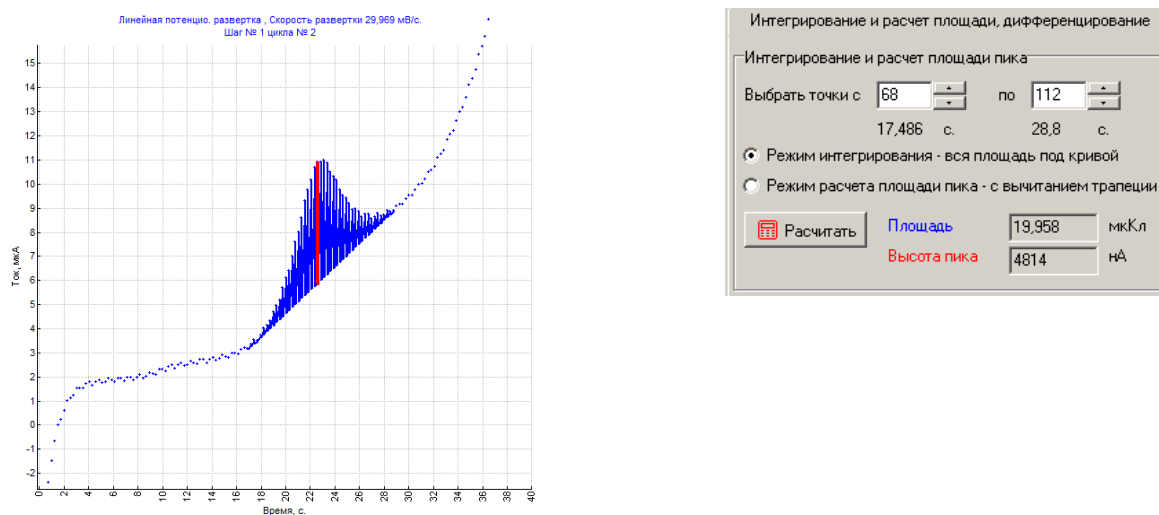


Figure 4. Calculation of the area under the peak using the software performing the potentiostat control

In modern software a rapid processing of the signal from the sensor, calculation of the statistical characteristics of both the original signal and the results of the entire analysis are used. Thus, the correct measurement of the area under the peak or peak height affects the correctness and accuracy of the entire analysis as a whole.

1.2.3 Ways of signal improvement

Improvement of the analytical signal and elimination of possible interference in the voltammetric analysis can be achieved due to the correct selection of the background electrolyte, varying conditions of shooting, and also by modifying the surface of the indicating electrode.

1.3 Quantitative assay in voltammetry

1.3.1 Calibration chart method

Before taking voltammograms of a solution with an unknown concentration of the analyte, it is necessary to obtain a calibration characteristic (graduation, CC). To construct the calibration, voltammograms of a number of solutions (calibration

mixtures) are taken from 5-8 standard solutions with different and precisely known concentration of the analyte. For each point it is necessary to use at least 3 parallel solutions. The obtained parameters of the experimental values help to construct the dependence of the peak height of the current or the area under the peak on the concentration of the analyte. Then a voltammogram of the test sample with an unknown concentration of analyte is taken under the same conditions, and by determining the height / area of the peak, the concentration of the analyte is found algebraically or graphically.

In order to optimize costs during measurements and to achieve the required accuracy of the calibration characteristic, it is necessary to plan the measurements at the stage of developing the methodology. Measurements planning consists in choosing the number of parallel measurements at point n , the number of points N , and also establishing the requirements to the accuracy of the calibration mixtures, on account of the required accuracy of the construction of the calibration characteristic [6].

It is rationally to choose the number of measurements of n at a point from the condition of an insignificant increase in the net inaccuracy in comparison with the systematic component by formula

$$n \geq \frac{\max x_i \frac{7S^2(y)}{b^2 \cdot \theta(x)}}{\max x_i \frac{2u_A^2(y)}{b^2 \cdot u_B^2(x)}} , \quad (2)$$

where x – is the concentration of the analyte, M;

y – is the area under the peak, C;

$S(y)$ – is the standard deviation of a single measurement of the output quantity;

$\theta(x)$ – is the absolute error of the calibration mixtures;

$u_A(y)$ – is the standard uncertainty of the value of the output quantity estimated by type A;

$u_B(x)$ – is the standard uncertainty of the calibration mixture, estimated by type B;

b – is the calibration characteristic parameter.

If the calibration mixtures were prepared independently of each other, the required accuracy of CC construction can be achieved by increasing the number of calibration mixtures and reducing their errors in accordance with the formula:

$$\frac{\max_{x_i} b^2 \cdot \theta^2(x_i)}{3N} = \frac{\max_{x_i} b^2 \cdot u_B^2(x_i)}{N} \leq u_{\Sigma all}^2, \quad (3)$$

where $u_{\Sigma all}$ – is the allowable total standard uncertainty of the CC construction (standard deviation of the permissible error).

If the calibration mixtures were prepared by diluting the main mixture or using the same standard samples, then in the construction of linear CC it is recommended to use two calibration mixtures. In this case, the following errors of the calibration mixtures must be ensured based on the requirements for the accuracy of the CC construction:

$$\frac{\max_{x_i} b^2 \cdot \theta^2(x_i)}{3} = \max_{x_i} b^2 \cdot u_B^2(x_i) \leq u_{\Sigma all}^2 \quad (4)$$

When conducting the study, the results obtained beyond the limits of the calibration curve cannot be regarded as reliable since the calibration functions of some organic substances are often nonlinear, and extrapolation leads to large errors in the analysis. If as a result of measurements in the sample the content of the analyte is outside the limits of the calibration curve, the CC should be re-constructed so that the expected result of the analysis lies between the extreme values of the concentrations of the calibration mixtures.

Calibration curves constructed with reagents of different batches, as a rule, do not coincide. That is why, when changing reagents, the graph must be built anew. Besides, a graph constructed on one device cannot be used to calculate the results obtained on another device.

1.3.2 Addition method

Addition method is the introduction of known, pre-prepared additives into the analyzed sample. According to RIS 61, working samples of a substance and working

samples of a substance with a known quantity of the additive are samples for evaluating the quality of the assay procedure using the addition method [7]. Specially prepared samples (additives) with a known concentration should be homogeneous and conform to the composition of the substance samples. The error in their preparation should not introduce an additional statistically significant error in the indicator values of the correctness of the analysis technique. The content of the determined component in the sample should not exceed the upper limit of the range in which the calibration characteristic was previously obtained, and the constancy of the reproducibility index was assumed. Thus, initially it is necessary to take the voltammogram of the analyzed solution in the background electrolyte, and then introduce to the analyzed solution a specially prepared solution of the analyte with a precisely known concentration, so that the peak is approximately doubled. After taking the voltammogram under the same conditions, the concentration of the substance is calculated according to formula 5:

$$C_x = \frac{I_{an} \cdot C_{ad} \cdot V_{ad}}{(I_{ad} - I_{an}) \cdot V_{total}}, \quad (5)$$

where C_x – is the concentration of the element in the solution of the electrochemical cell, M;

C_{ad} – is the concentration of a specially prepared sample (additive), M;

I_{an} – is the peak height of the analyzed component on the voltammogram of the sample, mkA;

I_{ad} – is the peak height of the analyzed component on the voltammogram of the sample with the additive, mkA;

V_{ad} – is the volume of the analyte component added to the cell, ml;

V_{total} – is the total volume of the analyzed solution (including the volume of the background electrolyte) and additives, ml.

The advantage of the method of additives is that it allows most fully taking into account the influence of impurities in the analysis of a real object.

1.3.3 Analysis of spiked samples

The correctness of the obtained results is most often determined by the analysis of spiked samples. The essence of this method is that an additive of the determined element, with a precisely known concentration, is added to the background electrolyte. The voltammograms of the resulting solution are recorded. Further, the signal value on the voltammogram is measured and the calibration concentration of the analyte is determined from the calibration characteristic or the regression equation. After this, the deviation of the found value (%) of the analyte concentration from the set (entered) value is determined.

1.4 Validation parameters of quantitative electrochemical analysis

1.4.1 Terms and Definitions

Selectivity is the ability of the analytical methodology to unambiguously evaluate the test substance in the presence of other components that may present in the analyzed sample. As a rule, they are impurities, solvents, auxiliary substances, decay products, etc.

The detection limit is the lowest concentration of the substance in the sample, which can be detected and approximately estimated using the validation methodology.

The analytical area of the methodology is the interval between the upper and lower values of the analytic characteristics of the component being determined in the analysis object (its quantity, concentration, activity, etc.). In this interval, the results obtained using the validation methodology, should have an acceptable level of correctness and intralaboratory (intermediate) precision.

The methodology of quantification should be applicable in the range from 80 to 120% of the nominal value of the determined analytical characteristic.

Methodology linearity is the presence of a linear dependence of the analytical signal on the concentration of the determined substance in the analyzed sample within the analytical area of the procedure.

In the validation methodology its linearity in the analytical area is verified experimentally by measuring the analytical signals for at least 5 samples with different concentrations of the determined substance. The experimental data are processed by the least squares method using a linear model:

$$y = b \cdot x + a \quad (6)$$

where x – is the concentration of the determined substance, M;

y – is the magnitude of the response (area under the peak, C);

b – is the slope;

a – is a free term.

To assess how strongly two variables are linearly related, it is necessary to indicate the determination coefficient, which is the square Pearson correlation coefficient (R^2). In most cases, linear dependencies are used that meet the condition $R^2 \geq 0.99$.

The trueness of the methodology is characterized by a deviation of the average result of the definitions made with its use, from the value taken as the true one.

The validation methodology is considered true if the values taken as the true one lie within the confidence intervals of the corresponding average results of the analyzes obtained experimentally using this technique.

Precision is a characteristic of the scattering of the results, obtained using this methodology, toward the average result. The measure of such scattering is the value of the standard deviation of the result of a separate determination, obtained for sampling a sufficiently large volume.

Precision can be evaluated in three versions:

- as repeatability (convergence);
- as intralaboratory (intermediate) precision;
- as interlaboratory precision (reproducibility).

The results of the evaluation of the analysis procedure for each of the precision options are generally characterized by the corresponding value of the standard deviation value of the result of a separate determination.

Usually the repeatability (convergence) of the results obtained with its use is determined in the development of the original methodology. If it is necessary to incorporate the developed methodology into the normative documentation, its internal laboratory (intermediate) precision is additionally determined.

The repeatability (convergence) of the analytical methodology is evaluated by independent results obtained under the same regulated conditions in one laboratory (the same performer, the same equipment, the same set of reagents) within a short period of time.

The intralaboratory (intermediate) precision of the validation methodology is evaluated under the conditions of one laboratory (different days, different performers, different equipment, etc.).

1.4.2 Acceptance criteria

One of the main stages in the development of the methodology is the establishment of ranges of validation parameters. The ranges of validation parameters of quantitative electrochemical analysis are presented in Table 1.

Table 1 – Ranges of validation parameters of quantitative electrochemical analysis

Validation parameter	Ranges of parameter
1. Specificity	Solvents and reagents used in analysis and preparation of samples do not distort the result.
2. Linearity	Correlation coefficient $R^2 \geq 0,990$.
3. Correctness	Average value: 99 – 101 %; The confidence interval of the average analysis result should include a 100% value.
4. Precision 4.1 Repeatability (convergence) 4.2 Intralaboratory precision	Coefficient of variation $\leq 1,5$ % Coefficient of variation for two samples $\leq 2,5$ %; F- and t- criteria are less than table.

1.5 Instrumentation of the voltammetric method

1.5.1 Electrodes

One of the promising areas of development of biosensor electrochemical technologies is the use of electrodes produced by screen printing. They are designed to conduct any electrochemical studies using a three-electrode system, and also to create various analytical systems on their basis. The working and counter electrodes are made of carbon paste, the reference electrode is made of silver, Figure 5 shows the physical configuration of CSPE.



Figure 5. Physical configuration of the electrode produced by screen printing method

CSPE electrodes have been widely used due to their versatility, low cost, simplicity of their manufacturing technology. One-time usage allows not worrying about the purity of the analysis, the regeneration of the working surface of the electrodes, which is usually achieved by grinding and polishing. The use of CSPE results in a reduction in the sample volume required for a single analysis.

1.5.2. Electrode modifiers

Planar carbon electrodes, like volumetric ones, have to be modified to increase the selectivity, sensitivity of the analysis, and reduce the detection limit of the analyte. Chemically modified electrodes (CME) are new generation sensors that have truly unique properties. Very high requirements are imposed to the modified

electrodes: first of all, the electrodes must ensure the electrochemical reaction proceeds at a high speed at small overvoltage, be inert to the outward influences and selective towards the analyte.

Most often, a chemical compound is applied to the surface of the electrode, a modifier that gives the electrode new electrocatalytic properties [8]. The modifier is a substance that allows obtaining the signal / response of the detected compound or the desired signal change towards the unmodified electrode (increase in selectivity and sensitivity, etc.).

As modifiers are used:

1) Biological and organic molecules.

To detect various target molecules and convert the biochemical response, synthetic receptors, enzymes, DNA-modifiers (aptamers) are used in biochemistry and medicine. Modified electrodes on their basis give specific responses to various substrates, including biologically active substances.

2) Inorganic salts and complexes.

Hexacyanommetals (HCM) are a class of inorganic compounds with the general formula $M_a^I [M^{II}(\text{CN})_6]_b \cdot x\text{H}_2\text{O}$, where M^I and M^{II} are transition metal ions with different degrees of oxidation. Changes in the properties of CME based on HCM films are achieved by varying the metal nature, and also by including transition and platinum metal in the structure of the HCM.

3) Polymer films.

One of the most common CME manufacturing methods with electrocatalytic properties consists in applying polymer films on the surface of solid electrodes [9]. Advantages of polymer films are chemical and physical stability, good conductivity, as well as simplicity of manufacturing and possibility of repeated use.

The properties of polymer films are influenced by various factors: the structure of the polymer, the conditions for obtaining the film (the nature of the substrate material, the nature of the solvent, the composition of the electrolyte, the nature of the counter ion and the pH of the solution), and the conditions of recording the electrochemical signal (potential area, nature of the background electrolyte) [10].

4) Polymer films with included particles of precious metals and bimetals based on them.

Polymer films with included redox systems are promising electrode modifiers. Conducting polymers are electroactive in a sufficiently wide range of potentials, where a mediator mechanism of charge transfer is realized, but at certain potentials they lose electronic conductivity, the film itself retains ionic conductivity.

5) Metal nanoparticles.

As is known, gold and metals of the platinum subgroup are universal catalysts for many electrochemical reactions [11]. Nanoscale particles are generally considered to be from 1 to 100 nm [12]. A feature of nanoparticles is a high specific activity. Reactions that practically do not occur on the surface of macrocrystals are possible on CME with nanoparticles.

Electrodes with supported catalyst metals on various carriers or substrates have been widely used in practice. They show special adsorption and electrocatalytic properties, different from compact and dispersed metals. The observed effects are associated with a change in the crystal orientation of the particles and their electronic structure.

In this scientific work, it is proposed to use copper nanoparticles obtained by laser ablation of a bulk metal target in pure solvents. Copper nanoparticles have become widespread in microbiology, medicine, catalysis due to their low cost, high electrical conductivity and non-toxicity. The method of laser ablation allows obtaining high-purity colloidal solutions without impurities or residues of reaction products [13]. With the help of this method, it is possible to obtain particles with a rather narrow size distribution, the expected shape, with a predetermined concentration and reproducible results from synthesis to synthesis. During deposition, nanoparticles are distributed fairly uniformly over the electrode surface. The amount of particles on the surface is regulated not only by their concentration in the dispersion, but also by the amount of dispersion applied to the electrode. We have previously shown that nanoparticles obtained by the laser ablation method can be

used as a modifier to separate the peaks of the electro conversion of ascorbic acid and dopamine [14].

1.5.3 Analytes

The wide practical application and biological importance of various organic compounds determine the necessity of development of new efficient, sensitive and selective methods for their determination. In this graduate qualification work, the electrochemical determination of such important organic and biologically active compounds as ascorbic acid, nicotinic acid and glucose was investigated.

1) Ascorbic acid (vitamin C)

Ascorbic acid (AA) is an organic compound that is one of the basic substances in a person's diet. AA is necessary for the normal functioning of connective and bone tissue, blood vessels, gums, promotes the body's absorption of iron [14]. In pharmacology, vitamin C is used as strengthening immune system means for various diseases (acute respiratory viral infection, influenza), as a preventive remedy at low dietary intake, and also it is involved in the regulation of blood coagulability, tissue regeneration and the synthesis of steroid hormones [15]. In case of its shortage the person experiences drowsiness, flaccidity, bleeding gums, tendency to frequent colds. According to recent studies, conducted by scientists at Salford University in Manchester, ascorbic acid disrupts the metabolism of cancer stem cells and stops their growth [16].

Ascorbic acid, among other things, is used in cosmetic preparations to slow aging, healing and restoring the protective functions of skin, in particular, to restore skin humidity and elasticity after insolation. It is also used in creams for whitening the skin and fight pigment spots [17-18]. In the food industry, AA is used as a food additive (E300), to prevent oxidation and composition change of products and to increase their shelf life. Ascorbic acid is present in many biological fluids (intracellular fluid of the central nervous system, blood serum, etc.), juices, soft

drinks, pharmaceuticals, etc. That is why search for fast and sensitive methods of determining AA to control its content is extremely important.

Most methods of quantitative determination of ascorbic acid are based on its reducing properties [19]. Traditional titration methods are difficult to use in analyzing solutions that have their own intense coloring. Also, a photometric method is used to determine ascorbic acid. Visual methods of colorimetry are subjective and have a high measurement error, because they depend on the degree of sensitivity of the human eye. Using colorimetric methods, analysis cannot be automated, that is extremely fatigue for large-scale work.

In recent years, a large number of studies have been devoted to the electrochemical determination of ascorbic acid. Ascorbic acid is oxidized on solid electrodes irreversibly. Adsorption of products of electrochemical reaction on the surface of a solid electrode leads to poor reproducibility of the electrochemical signal. Overvoltage on a graphite electrode compared to a standard hydrogen electrode is more than 900 mV. These factors affect the characteristics of the error in determining AA. The use of chemically modified electrodes (CME) allows reducing overvoltage, as well as significantly improving the waveform and increasing the sensitivity of the determination of this biologically important compound. In connection with this, recently, a large number of published works are devoted to the search for CME for the determination of ascorbic acid. On the CME, the sensitivity of the detection of AA increases as compared to the unmodified electrode, the detection limit is declined, and high metrological indicators of analysis are provided. Thus, the development of a fast and highly sensitive technique for the determination of AA using modified electrodes is extremely important.

2) Nicotinic acid (vitamin B₃, vitamin PP)

Vitamin B₃ is needed to provide the body with energy, for the heart and central nervous system, it is involved in the metabolism of fats, proteins, amino acids, purines, as well as in tissue respiration and glycogenolysis. Nicotinic acid leads to the expansion of small blood vessels (including cerebral vessels) and improves blood microcirculation. Hypovitaminosis of vitamin B₃ leads to pellagra, a disease which

symptoms are dermatitis, diarrhea, and dementia. There are indications for the use of vitamin B₃ at gastrectomy, Hartnup disease (hereditary disease, accompanied by a violation of the assimilation of certain amino acids), the disease of the gastrointestinal tract, and also in a state of high body requirement in the vitamin PP: long-term fever, diseases of the hepatobiliary area (acute and chronic hepatitis, cirrhosis), chronic infections, malignant tumors, prolonged stress, pregnancy (especially against nicotine and drug dependence, multiple pregnancies) lactation period [21].

In the food industry, NA is used as a food additive (E375), as an antioxidant, acidity regulator and color stabilizer.

It is possible to overdose with nicotinic acid when taking high doses orally, resulting in hyperemia of the facial skin and upper body, dizziness, blood flushes to the facial skin, arrhythmia, orthostatic hypotension, diarrhea, dry skin and eye mucosa, hyperglycemia, nausea, vomiting, harassing skin itch. A large number of NA can give rise to life-threatening toxic reactions, leading to a thickening of the retina and an increase of the uric acid level in the blood [22-23].

Thus, the determination of nicotinic acid in biological samples, food products, nutrients and pharmaceuticals has become the subject of growing interest due to its impact on human health.

Analytical methods such as high-performance liquid chromatography (HPLC) [24], ion chromatography [25], micellar electro kinetic capillary chromatography [26], micellar liquid chromatography [27], capillary electrophoresis [28] are used for quantitative determination of NA. An essential drawback of these methods is the need in expensive and complex equipment. Moreover, these methods have low sensitivity and selectivity.

Methods for determining NA in natural products and pharmaceutical preparations using colorimetric [29], spectroscopic [30], and titration methods [31] are presented in literature. The disadvantages of these methods of quantitative determination of nicotinic acid are the complexity and duration of the analysis. During a long-time comparison of the intensity of solutions color, the person's eye becomes tired and the measurement errors increase.

Electrochemical methods are a good alternative to the above mentioned methods because of their simplicity, high sensitivity, speed and low cost. However, NA has a low electro-activity on traditional electrodes, and the mechanism of its reaction is complex, and the existing detection methods have low metrological indices. For this reason, the actual task is to develop a methodology for the quantitative determination of NA by the voltammetric method using modified electrodes.

3) *Glucose*

Glucose is a monosaccharide, which serves as a universal source of energy for people. Being the most important nutrient for the central nervous system, glucose provides normal functioning of the body at a strong physical, intellectual and emotional load [32].

The main functions of glucose are nutritional and energy. Due to these functions it supports heartbeat, breathing, muscle contraction, brain function, and nervous system and regulates body temperature. It is glucose that recovers strength after stress and after severe illnesses which deplete the body. Another positive factor is the elimination of toxic substances, glucose neutralizes them.

An increased glucose level in the blood enhances the production of insulin that leads to intensive pancreas work. As a result, the body begins to deplete, there is a risk of developing diabetes, and immunity suffers. When the concentration of glucose in the blood reaches 10 mM, the liver ceases to cope with its functions, the work of the circulatory system is disrupted. The excess of sugar is converted into triglycerides (fat cells), which provoke the appearance of ischemic disease, atherosclerosis, hypertension, heart attack, cerebral hemorrhage.

A drop of glucose level in blood is also dangerous for the human body; it leads to insufficient brain nutrition, weakening of the body, which can lead to fainting sooner or later. A person loses strength, muscle weakness, apathy appears, physical activity is given with difficulty, coordination worsens, there is a feeling of anxiety, clouding of consciousness. Cells are in a state of starvation, their division and regeneration are slowed down, and the risk of tissue death is increasing.

Glucose is used in medicine for the compounding of medical preparations, blood preservation, intravenous infusion, etc.

From the above it follows that the quantitative determination of glucose in many areas, especially in clinical diagnosis (diabetes is a common chronic disease) is an important task. To confirm the effectiveness of treatment in diabetes mellitus, frequent testing of the patient's glucose level is carried out. So a great work is aimed at creating a highly sensitive, accurate, selective and inexpensive method for quantifying the level of glucose. Most biosensors for glucose monitoring use glucose oxidase or glucose dehydrogenase enzymes because of their excellent bioactivity and high sensitivity [33]. However, glucose oxidase is sensitive to various environmental factors, such as temperature, humidity and pH value. These factors are sources of rough errors in such an important analysis. In order to eliminate these drawbacks, it is necessary to use nonenzyme glucose sensors with high biocompatibility and sensitivity. Electrodes modified with such metals as gold, platinum, nickel, oxides and alloys are used as nonenzyme sensors [35-36]. Despite the fact that these materials have high electroactivity and stability, they have such disadvantages as high cost and the possibility of poisoning with chlorine ions, which greatly limits their use in the glucose sensors. Thus, the development of an accurate, inexpensive and environmentally safe method for determining glucose in nonenzyme sensory systems is a crucial task.